

MSCs分化为功能性肝细胞的研究进展

张国尊, 李春生, 张晓岚

■背景资料

肝硬化是我国常见疾病和主要死亡原因之一, 肝移植是肝硬化、终末期肝病的唯一治疗方法, 由于肝源紧张、免疫排斥及费用昂贵限制了肝移植的临床应用。近年来研究发现, 干细胞移植可作为替代肝移植的一种新的移植治疗方法。

张国尊, 张晓岚, 河北医科大学第二医院消化科 河北省石家庄市 050000

李春生, 顺平县医院内科 河北省顺平县 072250

张国尊, 主要从事MSCs治疗肝纤维化及肝硬化方面的研究。

作者贡献分布: 本文综述由张国尊与李春生完成; 张晓岚审核。

通讯作者: 张晓岚, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市, 河北医科大学第二医院消化科。xiaolanzh@126.com

电话: 0311-66002955

收稿日期: 2011-12-23 修回日期: 2012-03-15

接受日期: 2012-04-17 在线出版日期: 2012-05-18

Progress in research of differentiation of mesenchymal stem cells into functional hepatocytes

Guo-Zun Zhang, Chun-Sheng Li, Xiao-Lan Zhang

Guo-Zun Zhang, Xiao-Lan Zhang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Chun-Sheng Li, Department of Internal Medicine, Hebei Shunping Hospital, Shunping 072250, Hebei Province, China
Correspondence to: Xiao-Lan Zhang, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. xiaolanzh@126.com

Received: 2011-12-23 Revised: 2012-03-15

Accepted: 2012-04-17 Published online: 2012-05-18

Abstract

Mesenchymal stem cells (MSCs) are a group of stem cells deriving from mesodermal mesenchyme. They can be recovered from a variety of tissues, including bone marrow, umbilical cord tissue, umbilical cord blood, peripheral blood and adipose tissue. Under given conditions, MSCs can differentiate into bone, fat, nerve cells, hepatocytes and many other cells, and thus can be used as a new treatment to substitute for organ transplantation. In recent years, the incidence of end-stage liver disease has been increasing and it has become one of the major diseases affecting human health. Donor scarcity and immunological rejection limit the clinical application of liver transplantation. Numerous studies have confirmed the therapeutic effects of MSCs on hepatic fibrosis, cirrhosis and other liver diseases, which may be related to the differentiation of MSCs into functional hepatocytes.

This paper reviews the capacity, regulation and molecular mechanism of MSC differentiation and discusses the therapeutic effects of different sources of stem cells for liver fibrosis.

Key Words: Mesenchymal stem cells; Differentiation; Hepatocytes

Zhang GZ, Li CS, Zhang XL. Progress in research of differentiation of mesenchymal stem cells into functional hepatocytes. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1216-1221

摘要

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)来源于中胚层间充质, 广泛存在于骨髓、脐带组织、脐血、外周血、脂肪等组织中。在特定条件下, 可以分化为骨、脂肪、神经细胞及肝细胞等多种细胞, 进而作为一种替代器官移植的新的治疗方法。近年来, 肝硬化等终末期肝病的发病率日益上升, 成为影响人类健康的重大疾病之一。肝源紧张、免疫排斥限制了肝移植的临床应用, 然而众多研究证实MSCs对肝纤维化、肝硬化等肝病的治疗作用可能与其分化为功能性肝细胞有关, 但具体机制尚不十分清楚。本文就MSCs的分化能力及其分化的调控、分子机制和不同来源干细胞对肝纤维化的治疗作用作一综述。

关键词: 间充质干细胞; 分化; 肝细胞

张国尊, 李春生, 张晓岚. MSCs分化为功能性肝细胞的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20(14): 1216-1221
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1216.asp>

0 引言

肝硬化是我国常见疾病和主要死亡原因之一, 肝移植是肝硬化、终末期肝病的唯一治疗方法, 但是由于长期缺乏供体、操作复杂、移植后免疫排斥、治疗费用昂贵等问题, 限制了肝移植的临床应用^[1]。近年来研究发现, 干细胞移植可作为替代肝移植的一种新的移植治疗方法^[2,3]。与器官移植相比, 干细胞移植来源丰富^[4], 移植

■同行评议者

单云峰, 副主任医师, 温州医学院第一附属医院肝胆外科

创伤性小, 可反复进行, 可降低急性肝衰竭的死亡率^[5]. 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一种多能干细胞, 不仅可以分化为成骨细胞、脂肪细胞、肌肉细胞等中胚层间质组织细胞^[6-9], 还可跨越胚层界限, 分化为外胚层的神经元及内胚层的肝细胞等^[10]. 众多研究证实, 将MSCs移植入肝纤维化及肝硬化的大鼠体内, 肝功能可以得到明显改善, 但具体作用机制尚不十分清楚, 可能与分化为肝细胞有关.

1 MSCs的体内外分化

1.1 MSCs的体外分化 不同来源的MSCs均可分化为肝细胞, 其中促进分化的分子机制非常复杂, 单纯适当的培养基对于诱导分化出特定的细胞类型是远远不够的, 即使是体外分化, 分化条件亦较难模拟, 在此我们强调培养细胞分化的微环境因子的重要性. 体外培养时, 培养基中加入适当可溶性因子通常对MSCs向间质组织分化至关重要. Pournasr等^[11]在培养基中相继加入肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor-4, FGF-4)进行第5代骨髓源间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)培养, 每3 d更换1次培养基. 发现起初6-7 d, 细胞出现了从双极的成纤维细胞向圆形的上皮样细胞的转变, 但此时细胞仍为纺锤形; 在分化的后期阶段, 细胞变得十分致密, 为圆形, 并呈现出清晰的单核或双核; 此后继续分化, 于14-40 d可见到小圆形或椭圆形的多面体细胞, 即为原始肝细胞. 在肝细胞的诱导分化过程中细胞不仅发生了形态学变化, 随后亦检测到了肝细胞的特有蛋白包括细胞角蛋白18(cytokeratin 18, CK18)、 α -抗胰蛋白酶(alpha-1 antitrypsin, AAT)及白蛋白(albumin, ALB)的表达, 从而证实了BM-MSCs向功能性肝细胞样细胞的分化. 同样体外添加HGF、FGF-4可诱导脐带源MSCs(umbilical cord-derived mesenchymal stem cells, UC-MSCs)^[12,13]、大鼠BM-MSCs^[14]及脂肪源间充质干细胞(adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, AT-MSCs)^[15]分化为功能性肝细胞样细胞(hepatocyte-like cells, HLCs). Pan等^[16]体外诱导肝源性MSCs分化, 将传统体外干细胞诱导分化3步法中的第3步改良, 加入JFH-1源HCV孵育, 30 d后检测到hALB、糖原等肝细胞特有标志物的表达, 并且具有与BM-MSCs分化来的肝细胞样细胞相似的特性, 从而证实肝源性MSCs

在体外亦可以分化为肝细胞样细胞.

1.2 MSCs的体内分化 在体内实验研究中, Ju等^[17]将GFP⁺的BM-MSCs移植入CCl₄诱导的肝纤维化大鼠体内, 研究发现移植后4 wk细胞形态由圆形向肝细胞形态转变, 其中1/3的细胞表达肝细胞特有标志蛋白, 进而证实MSCs向功能性肝细胞的体内分化过程伴随形态学的变化, 这与体外研究结果一致. 其余2/3的细胞不表达肝细胞特有蛋白可能与以下因素有关: (1)移植的MSCs为不同时期的细胞, 其分化增殖能力不同, 检测到的只是一部分发生了转分化; (2)只有部分MSCs具有转分化功能; (3)由MSCs分化来的细胞部分已被CCl₄破坏, 但其具体机制尚不清楚. 吴雄志等^[18]分离并体外培养 δ 小鼠BM-MSCs, 将第5代BM-MSCs移植到肝切除的 δ 小鼠肝脏残余物中, 移植第5天和第14天通过荧光原位杂交和荧光免疫检测方法可以检测到受体鼠肝脏中出现Y染色体与CK18双阳性细胞, 移植14 d后受体鼠肝脏重量有所增加, 说明BM-MSCs能够被诱导分化成肝细胞, 参与肝脏再生. UC-MSCs移植入小鼠体内的2-4 wk内可检测到AFP、ALB等肝细胞标志物, 证实了UC-MSCs在小鼠体内的肝细胞分化^[19]. 将胎盘来源的MSCs移植入CCl₄诱导的肝纤维化大鼠体内, 发现ALB表达明显上调, 再次证实了MSCs的肝分化^[20].

1.3 MSCs的分化受介质的动态变化所调控 MSCs在不同条件下可以分化为不同胚层来源的组织, 其中特定的细胞因子在MSCs的定向分化中发挥了重要作用. 例如转化生长因子 β (tumor-derived transforming growth factor, TGF- β)和骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)为软骨形成所必须; 有机磷酸盐为骨形成所必须; 激素刺激才能使其分化为脂肪组织^[21]. Piryaei等^[22]将鼠BM-MSCs在体外有或无纳米纤维的条件下培养至第18天及第36天分别分化为早期和晚期肝细胞样细胞, 随后各组分别移植入CCl₄诱导的肝纤维化小鼠体内, 研究发现纳米纤维可以促进MSCs向肝细胞分化, 并可以在长时间内使细胞保持其功能, 纳米纤维诱导分化的MSCs可以更好地改善肝纤维化小鼠的肝功能.

Mohsin等^[23]应用损伤的肝组织预处理MSCs, 随后将其移植入肝纤维化小鼠体内, 结果发现与未处理MSCs组相比, MSCs预处理移植组小鼠体内的CK8、CK18、ALB等表达较前者明显

■研发前沿

间充质干细胞(MSCs)可治疗肝纤维化、肝硬化等终末期肝病, 其具体作用机制尚不十分清楚, 可能与MSCs分化为功能性肝细胞及免疫调节等有关, 有待于进一步研究证实.

■相关报道

有报道检测MSCs分泌的一些细胞因子,证实MSCs在治疗肝硬化等终末期肝病中发挥了重要作用,从而证实了MSCs的免疫调节功能。

上调;同时有研究发现损伤的肝组织可以通过分泌细胞因子促进干细胞向肝细胞的分化^[24],从而证实损伤肝组织预处理干细胞可以增强其分化为肝细胞的能力。Dong等^[25]证实肝损伤环境中去除FGF-4、HGF及抑瘤素M(oncostatin M, OSM), BM-MSCs的肝分化明显受到抑制,当重新补充上述生长因子时又恢复其分化能力,进一步将以上3种因子单一或任意组合作用于BM-MSCs,结果发现FGF-4+HGF干预组细胞高表达AFP,低表达ALB; FGF-4+HGF+OSM干预组细胞的AFP及ALB均处于高表达水平,其他干预组的AFP及ALB均处于低表达水平。可见FGF-4、HGF及OSM在BM-MSCs的肝分化中起重要作用,其中FGF-4及HGF在BM-MSCs肝分化的早期阶段起协同作用, OSM对BM-MSCs后期肝分化过程中的肝细胞成熟至关重要。

Ayatollahi等^[26]分离BM-MSCs体外培养,在添加常规MSCs向肝细胞分化的诱导因子的基础上加入胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)诱导BM-MSCs向肝细胞分化,与对照组相比,无论是细胞形态评估,还是糖原含量测定, ALB、AFP及尿素分泌, IGF-1干预组细胞分化程度更佳,表明IGF-1可以促进BM-MSCs向肝细胞样细胞分化。

此外,完全活化的肝星状细胞可以促进MSCs向肝细胞样细胞的分化^[27,28]; HNF-4 α ^[29]及HNF3 β ^[30]过表达亦可以促进BM-MSCs向肝细胞样细胞的分化; HBV感染的血清可以抑制MSCs的增殖,但不会影响其向肝细胞的分化^[31]。

2 MSCs分化为功能性肝细胞的分子机制

2.1 MSCs和成纤维细胞 MSCs与成纤维细胞之间有密切关系^[32], MSCs和成纤维细胞的细胞表型(包括形态学、特定形成蛋白标志物)及生长能力无差别,他们是同一细胞的不同功能状态。人皮肤成纤维细胞在体内外特定诱导条件下可以分化为形态和功能类似肝细胞的肝细胞样细胞^[33]。Sun等^[34]在体外特定条件下培养人肝脏成纤维细胞,随着培养时间的延长,人肝脏成纤维细胞逐渐向具有多面体形态的肝细胞转化,同时伴随肝细胞特有标志物的表达;另外将人肝成纤维细胞注入免疫缺陷的小鼠体内,结果在小鼠体内可检测到人肝细胞蛋白,证明成纤维细胞在体内外可分化为肝细胞样细胞。成纤维细胞有进一步的分化潜能,支持成纤维细胞是干细胞系中进一步成熟的移行细胞的假说。

2.2 MSCs分化为功能性肝细胞的MET假说 尽管上述研究证实MSCs可分化为肝细胞样细胞,但是关于转分化及其分子机制尚不清楚。2008年Yamamoto等^[35]在胃癌患者行胃切除术中提取患者体内的脂肪组织,分离出其中的AT-MSCs后,再分选出CD105⁺的AT-MSCs,然后对AT-MSCs行肝细胞诱导分化。首先在肝细胞培养基中添加转铁蛋白、抗坏血酸、表皮生长因子、HGF、FGF-1、FGF-4等因子培养3 wk,之后肝细胞培养基中改添加OSM及地塞米松(dexamethasone, Dex)培养2 wk,接下来的5 wk于单纯肝细胞培养基中培养,聚类分析显示诱导组AT-MSCs与原代肝细胞的基因表达极为相似,说明以上方法诱导分化出AT-MSCs源肝细胞(AT-MSC-derived hepatocytes, AT-MSC-Hepa)。此外免疫细胞化学显示, AT-MSC-Hepa为圆形的上皮细胞样形态,而未分化的AT-MSCs为成纤维细胞样形态,即在肝分化过程中细胞形态发生了从成纤维细胞样向上皮细胞样的形态学转变。基因微点阵分析显示诱导上皮向间充质细胞转变(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)的因子Twist和Snail在细胞分化过程中表达下调;上皮细胞中表达的基因E-cadherin及alpha-catenin在AT-MSC-Hepa中表达上调;相反,间充质细胞中表达的基因N-cadherin及vimentin随分化而表达下调。同时,将人脐带血MSCs(human umbilical cord blood-derived MSCs, HMSCs)移植入肝纤维化大鼠体内,可检测到磷酸化肝间质上皮转换因子表达上调^[36],以上支持在MSCs向肝细胞分化过程中经历了MET的假说,即间充质细胞到上皮细胞的转变。

3 MSCs分化来的肝细胞样细胞对肝纤维化的治疗作用

3.1 AT-MSCs对肝纤维化的治疗作用 Banas等^[37]在征得受试者知情同意后,提取了腹部肿瘤术后患者的5 g皮下脂肪,分离其中的MSCs,添加HGF、FGF-1、FGF-4、OSM和Dex共培养40 d,随后几乎都转化为与肝细胞具有相似特性的细胞。研究这些肝细胞的特性时,检测到了十几种肝细胞特异性蛋白,比如血清组分白蛋白和药物代谢酶。Banas等^[15]将大约10⁷个AT-MSCs分化来的肝细胞移植入人为致药物性肝衰竭的鼠体内,升高的氨浓度在24 h内下降至接近正常水平,同时还发现这些细胞具有一定的细胞色素P450的代谢活性,这对肝脏中的药物代谢非常重要,

尤其像CYP2C9和CY2B6这些酶的产量与对照组培养的第1代人类肝细胞产生的量相当, 由此可见AT-MSCs通过分化为肝细胞样细胞对肝纤维化起到治疗作用。

3.2 HMSCs对肝纤维化的治疗作用 Jung等^[38]将HMSCs经尾静脉移植入CCl₄诱导的肝硬化大鼠体内, 分别于移植后1、2、4 wk处死大鼠, HE染色、MT染色及组织病理学纤维化评分显示与CCl₄模型组相比, HMSCs组肝纤维化明显减轻; 血清学检测显示HMSCs组的ALT、AST于移植后2、4 wk明显下降; HMSCs移植后4 wk组的肝组织中I型胶原、TGF- β 1及 α -SMA的表达较CCl₄模型组下降, 同时在HMSCs组的肝组织中检测到了hAFP、hALB的表达, 证明HMSCs可以改善肝硬化大鼠的肝功能, 减轻肝纤维化程度进而对肝硬化起到治疗作用, 其中HMSCs发生了向功能性肝细胞样细胞的分化。

3.3 BM-MSCs对肝纤维化的治疗作用 Hwang等^[39]将BM-MSCs经脾移植入硫代乙酰胺诱导的肝硬化大鼠体内, 发现BM-MSCs归巢至肝实质, 先分化为表达CK-19及Thy1的卵圆细胞, 随后分化为表达白蛋白的肝细胞样细胞, 并证实BM-MSCs移植可以修复损伤的肝细胞, 使肝星状细胞发生凋亡、减轻肝纤维化。与此同时, Li等^[40]将BM-MSCs与肝细胞共培养14 d后移植入CCl₄诱导的肝纤维化大鼠体内, 移植后1、3、4 wk处死大鼠, 结果显示肝纤维化得到明显改善, 免疫组织化学检测到ALB、AFP、CK19于移植后1 wk表达升高, RT-PCR和Western blot结果显示移植4 wk后CK18、CK19表达明显增加, ALB在蛋白水平增加。由此我们推测共培养的MSCs在移植后的前3 wk为肝前体细胞, 之后分化为肝细胞或胆管上皮细胞, 并且研究显示相对于用生长因子共培养MSCs, 肝细胞共培养组细胞移植体内后可向肝细胞继续分化的时间更长。从以上结果我们可以得出, MSCs分化来的肝前体细胞对肝纤维化有治疗作用, 今后有待于我们进一步研究促进MSCs向肝细胞分化从而对肝纤维化起到更佳治疗效果。

Peng等对527例乙肝肝衰竭患者进行相同内科治疗, 其中53例进行自体BM-MSCs移植, 105例作为对照。BM-MSCs移植组患者经肝动脉缓慢输注BM-MSCs后2-3 wk内, 与对照组相比, ALB、TBIL、PT及MELD评分得到明显改善, 移植后192 wk随访, 两组患者肝癌患病率或死亡率无明显差别, 同时肝硬化患者与无肝硬化患

者行BM-MSCs移植后肝癌患病率或死亡率亦无明显差别, 可见自体BM-MSCs移植对乙肝肝衰竭患者是安全的, 短期疗效较好, 但长期疗效不是十分理想。从改善的一些指标来看, BM-MSCs移植可用于肝硬化的治疗, 并且有可能降低肝硬化患者的肝癌发病率或死亡率。El-Ansary M等^[41]对15例Child-Pugh C级, MELD评分大于12分的丙肝肝硬化患者进行BM-MSCs移植, 移植又分为未分化BM-MSCs与分化BM-MSCs组, 移植后3 mo和6 mo, 随访患者显示其肝功能(包括凝血、白蛋白、胆红素及MELD评分)得到部分改善, 临床与实验结果未见未分化组与分化组有明显差别, 实验证明未分化与分化组的BM-MSCs移植对肝硬化均有治疗作用。有研究显示BM-MSCs体外可以抑制T细胞^[42]等多种免疫细胞的活性, 其具体机制尚不清楚, 这可能在MSCs治疗肝纤维化过程中起到了作用^[43]。目前研究证实干细胞对肝脏代谢疾病及各种原因引起的肝硬化均有一定的治疗作用^[44]。

4 不同来源的MSCs分化能力的比较

Chen等^[45]将UC-MSCs和BM-MSCs诱导分化为内皮细胞样细胞, 分析内皮细胞特有标志物及其功能, 结果显示二者具有相似的摄取低密度脂蛋白的能力, 但是UC-MSCs较BM-MSCs具有更强的增殖能力。Real-time PCR和免疫组织化学均证实UC-MSCs具有更强的表达内皮细胞特有标志物的能力。吕璐璐等^[46]证实UC-MSCs具有比BM-MSCs更强的增殖能力, 研究显示UC-MSCs HLA-ABC和CD106分子表达低于其在BM-MSCs中的表达, 即UC-MSCs具有更低的免疫原性; 其次, 分化出的肝细胞样细胞仍保持低免疫原性^[47], 有望成为BM-MSCs理想的替代来源。

近来一个关于BM-MSCs和羊膜源间充质干细胞(amniotic fluid-derived MSC, AF-MSC)的在体研究显示后者具有更强的分化能力、肝脏分化潜能, 遗传学上亦更加稳定。功能研究结果显示AF-MSCs来源的肝细胞样细胞表达肝细胞特有的标志物, 合成尿素、储存糖原及所有成熟肝细胞的功能。Puglisi等^[48]发现, 与BM-MSCs相比, AT-MSCs体外培养其功能维持的时间更长, 增殖能力亦更强^[49]; 并且AT-MSCs资源丰富, 通过简单的脂肪抽吸便可得到, 取材简便。另有研究证实与BM-MSCs相比, AT-MSCs可以分泌更多的粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-

■应用要点

本文总结了MSCs分化在其治疗终末期肝病中的作用及最新研究进展, 为临床MSCs治疗肝硬化等终末期肝病提供理论基础及指导作用。

■同行评价

本文综述了MSC向肝细胞分化的最新研究进展, 选题新颖, 对临床及基础研究具有重要指导意义。

stimulating factor, G-CSF)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、HGF等, 这些因子在肝衰竭的治疗中发挥了重要作用^[50]。

5 结论

大量实验表明, 不同来源MSCs可以定向分化为功能性肝细胞, 分化受细胞所处复杂微环境调控, 目前研究主要聚焦于MSCs在体外如何诱导分化为功能性肝细胞, 未来将重点探讨MSCs的体内诱导分化作用及其机制, 以期更好地发挥MSCs移植在终末期肝病中的治疗作用。

6 参考文献

- Baertschiger RM, Serre-Beinier V, Morel P, Bosco D, Peyrou M, Clément S, Sgroi A, Kaelin A, Buhler LH, Gonelle-Gispert C. Fibrogenic potential of human multipotent mesenchymal stromal cells in injured liver. *PLoS One* 2009; 4: e6657
- Ren H, Zhao Q, Cheng T, Lu S, Chen Z, Meng L, Zhu X, Yang S, Xing W, Xiao Y, Ren Q, Chi Y, Gu D, Yang R, Han ZC. No contribution of umbilical cord mesenchymal stromal cells to capillarization and venularization of hepatic sinusoids accompanied by hepatic differentiation in carbon tetrachloride-induced mouse liver fibrosis. *Cytotherapy* 2010; 12: 371-383
- Lysy PA, Campard D, Smets F, Najimi M, Sokal EM. Stem cells for liver tissue repair: current knowledge and perspectives. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 864-875
- Jung KH, Uhm YK, Lim YJ, Yim SV. Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells improve glucose homeostasis in rats with liver cirrhosis. *Int J Oncol* 2011; 39: 137-143
- Shi LL, Liu FP, Wang DW. Transplantation of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells improves survival rates in a rat model of acute hepatic necrosis. *Am J Med Sci* 2011; 342: 212-217
- La Rocca G, Anzalone R, Corrao S, Magno F, Loria T, Lo Iacono M, Di Stefano A, Giannuzzi P, Marasà L, Cappello F, Zummo G, Farina F. Isolation and characterization of Oct-4⁺/HLA-G⁺ mesenchymal stem cells from human umbilical cord matrix: differentiation potential and detection of new markers. *Histochem Cell Biol* 2009; 131: 267-282
- Yang XF, He X, He J, Zhang LH, Su XJ, Dong ZY, Xu YJ, Li Y, Li YL. High efficient isolation and systematic identification of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *J Biomed Sci* 2011; 18: 59
- Thanabalasundaram G, Arumalla N, Tailor HD, Khan WS. Regulation of differentiation of mesenchymal stem cells into musculoskeletal cells. *Curr Stem Cell Res Ther* 2012; 7: 95-102
- Satija NK, Singh VK, Verma YK, Gupta P, Sharma S, Afrin F, Sharma M, Sharma P, Tripathi RP, Gurudutta GU. Mesenchymal stem cell-based therapy: a new paradigm in regenerative medicine. *J Cell Mol Med* 2009; 13: 4385-4402
- Gregory CA, Prockop DJ, Spees JL. Non-hematopoietic bone marrow stem cells: molecular control of expansion and differentiation. *Exp Cell Res* 2005; 306: 330-335
- Pournasr B, Mohamadnejad M, Bagheri M, Aghdami N, Shahsavani M, Malekzadeh R, Baharvand H. In vitro differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells. *Arch Iran Med* 2011; 14: 244-249
- Zhang YN, Lie PC, Wei X. Differentiation of mesenchymal stromal cells derived from umbilical cord Wharton's jelly into hepatocyte-like cells. *Cytotherapy* 2009; 11: 548-558
- 闰俊卿, 韩涛, 朱争艳. 人脐带间充质干细胞生物学特性及向类肝细胞的分化. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1639-1644
- 邢全台, 孙启龙, 李栋, 邢培祥, 马瑞萍, 陈丰哲, 邵美英, 姚永远, 关彦彦. 骨髓间充质干细胞向肝细胞样细胞的诱导分化. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2654-2661
- Peng L, Xie DY, Lin BL, Liu J, Zhu HP, Xie C, Zheng YB, Gao ZL. Autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in liver failure patients caused by hepatitis B: short-term and long-term outcomes. *Hepatology* 2011; 54: 820-828
- Pan Q, Fouraschen SM, Kaya FS, Versteegen MM, Pescatori M, Stubbs AP, van Ijcken W, van der Sloot A, Smits R, Kwekkeboom J, Metselaar HJ, Kazemier G, de Jonge J, Tilanus HW, Wagemaker G, Janssen HL, van der Laan LJ. Mobilization of hepatic mesenchymal stem cells from human liver grafts. *Liver Transpl* 2011; 17: 596-609
- Ju S, Teng GJ, Lu H, Jin J, Zhang Y, Zhang A, Ni Y. In vivo differentiation of magnetically labeled mesenchymal stem cells into hepatocytes for cell therapy to repair damaged liver. *Invest Radiol* 2010; 45: 625-633
- 吴雄志, 赵连三, 许倩, 张怡, 唐红. 骨髓间充质干细胞在肝部分切除模型小鼠体内向肝细胞分化. *生物医学工程学杂志* 2005; 22: 1234-1237
- Campard D, Lysy PA, Najimi M, Sokal EM. Native umbilical cord matrix stem cells express hepatic markers and differentiate into hepatocyte-like cells. *Gastroenterology* 2008; 134: 833-848
- Lee MJ, Jung J, Na KH, Moon JS, Lee HJ, Kim JH, Kim GI, Kwon SW, Hwang SG, Kim GJ. Anti-fibrotic effect of chorionic plate-derived mesenchymal stem cells isolated from human placenta in a rat model of CCl₄-injured liver: potential application to the treatment of hepatic diseases. *J Cell Biochem* 2010; 111: 1453-1463
- Gregory CA, Ylostalo J, Prockop DJ. Adult bone marrow stem/progenitor cells (MSCs) are preconditioned by microenvironmental "niches" in culture: a two-stage hypothesis for regulation of MSC fate. *Sci STKE* 2005; 2005: pe37
- Piryaee A, Valojerdi MR, Shahsavani M, Baharvand H. Differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells on nanofibers and their transplantation into a carbon tetrachloride-induced liver fibrosis model. *Stem Cell Rev* 2011; 7: 103-118
- Mohsin S, Shams S, Ali Nasir G, Khan M, Javaid Awan S, Khan SN, Riazuddin S. Enhanced hepatic differentiation of mesenchymal stem cells after pre-treatment with injured liver tissue. *Differentiation* 2011; 81: 42-48
- Chen Y, Xiang LX, Shao JZ, Pan RL, Wang YX, Dong XJ, Zhang GR. Recruitment of endogenous bone marrow mesenchymal stem cells towards injured liver. *J Cell Mol Med* 2010; 14: 1494-1508
- Dong XJ, Zhang H, Pan RL, Xiang LX, Shao JZ.

- Identification of cytokines involved in hepatic differentiation of mBM-MSCs under liver-injury conditions. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3267-3278
- 26 Ayatollahi M, Soleimani M, Geramizadeh B, Imanieh MH. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) improves hepatic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Cell Biol Int* 2011; 35: 1169-1176
 - 27 何文艳, 刘树贤, 姜慧卿. 大鼠骨髓间充质干细胞向类肝细胞体外诱导分化. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2464-2469
 - 28 Deng X, Chen YX, Zhang X, Zhang JP, Yin C, Yue HY, Lin Y, Han ZG, Xie WF. Hepatic stellate cells modulate the differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells. *J Cell Physiol* 2008; 217: 138-144
 - 29 Chen ML, Lee KD, Huang HC, Tsai YL, Wu YC, Kuo TM, Hu CP, Chang C. HNF-4 α determines hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells from bone marrow. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5092-5103
 - 30 Ishii K, Yoshida Y, Akechi Y, Sakabe T, Nishio R, Ikeda R, Terabayashi K, Matsumi Y, Gonda K, Okamoto H, Takubo K, Tajima F, Tsuchiya H, Hoshikawa Y, Kurimasa A, Umezawa A, Shiota G. Hepatic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells by tetracycline-regulated hepatocyte nuclear factor 3 β . *Hepatology* 2008; 48: 597-606
 - 31 Hu WH, Ren J. [Impact of hepatitis B virus infected serum on the hepatic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells]. *Beijing Daxue Xuebao* 2008; 40: 459-464
 - 32 McNulty RJ. Fibroblasts and myofibroblasts: their source, function and role in disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 666-671
 - 33 Lysy PA, Smets F, Sibille C, Najimi M, Sokal EM. Human skin fibroblasts: From mesodermal to hepatocyte-like differentiation. *Hepatology* 2007; 46: 1574-1585
 - 34 Sun YL, Yin SY, Zhou L, Xie HY, Zhang F, Wu LM, Zheng SS. Hepatocyte differentiation of human fibroblasts from cirrhotic liver in vitro and in vivo. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 55-63
 - 35 Yamamoto Y, Banas A, Murata S, Ishikawa M, Lim CR, Teratani T, Hatada I, Matsubara K, Kato T, Ochiya T. A comparative analysis of the transcriptome and signal pathways in hepatic differentiation of human adipose mesenchymal stem cells. *FEBS J* 2008; 275: 1260-1273
 - 36 Tsai PC, Fu TW, Chen YM, Ko TL, Chen TH, Shih YH, Hung SC, Fu YS. The therapeutic potential of human umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly in the treatment of rat liver fibrosis. *Liver Transpl* 2009; 15: 484-495
 - 37 Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, Tokuhara M, Takeshita F, Quinn G, Okochi H, Ochiya T. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes. *Hepatology* 2007; 46: 219-228
 - 38 Jung KH, Shin HP, Lee S, Lim YJ, Hwang SH, Han H, Park HK, Chung JH, Yim SV. Effect of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in a cirrhotic rat model. *Liver Int* 2009; 29: 898-909
 - 39 Hwang S, Hong HN, Kim HS, Park SR, Won YJ, Choi ST, Choi D, Lee SG. Hepatogenic differentiation of mesenchymal stem cells in a rat model of thioacetamide-induced liver cirrhosis. *Cell Biol Int* 2012; 36: 279-288
 - 40 Li TZ, Kim JH, Cho HH, Lee HS, Kim KS, Lee SW, Suh H. Therapeutic potential of bone-marrow-derived mesenchymal stem cells differentiated with growth-factor-free coculture method in liver-injured rats. *Tissue Eng Part A* 2010; 16: 2649-2659
 - 41 El-Ansary M, Abdel-Aziz I, Mogawer S, Abdel-Hamid S, Hammam O, Teaema S, Wahdan M. Phase II Trial: Undifferentiated Versus Differentiated Autologous Mesenchymal Stem Cells Transplantation in Egyptian Patients with HCV Induced Liver Cirrhosis. *Stem Cell Rev* 2011 Oct 12. [Epub ahead of print]
 - 42 Bartholomew A, Polchert D, Szilagyi E, Douglas GW, Kenyon N. Mesenchymal stem cells in the induction of transplantation tolerance. *Transplantation* 2009; 87: S55-S57
 - 43 di Bonzo LV, Ferrero I, Cravanzola C, Mareschi K, Rustichell D, Novo E, Sanavio F, Cannito S, Zamara E, Bertero M, Davit A, Francica S, Novelli F, Colombatto S, Fagioli F, Parola M. Human mesenchymal stem cells as a two-edged sword in hepatic regenerative medicine: engraftment and hepatocyte differentiation versus profibrogenic potential. *Gut* 2008; 57: 223-231
 - 44 Alison MR, Islam S, Lim S. Stem cells in liver regeneration, fibrosis and cancer: the good, the bad and the ugly. *J Pathol* 2009; 217: 282-298
 - 45 Chen MY, Lie PC, Li ZL, Wei X. Endothelial differentiation of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells in comparison with bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Exp Hematol* 2009; 37: 629-640
 - 46 吕璐璐, 宋永平, 魏旭东, 房伯俊, 张艳莉, 李玉富. 人脐带和骨髓源间充质干细胞生物学特征的对比研究. *中国实验血液学杂志* 2008; 16: 140-146
 - 47 Zhao Q, Ren H, Li X, Chen Z, Zhang X, Gong W, Liu Y, Pang T, Han ZC. Differentiation of human umbilical cord mesenchymal stromal cells into low immunogenic hepatocyte-like cells. *Cytotherapy* 2009; 11: 414-426
 - 48 Puglisi MA, Saulnier N, Piscaglia AC, Tondi P, Agnes S, Gasbarrini A. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells and hepatic differentiation: old concepts and future perspectives. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011; 15: 355-364
 - 49 de la Garza-Rodea AS, van der Velde-van Dijke I, Boersma H, Gonçalves MA, van Bekkum DW, de Vries AA, Knaän-Shanzer S. Myogenic properties of human mesenchymal stem cells derived from three different sources. *Cell Transplant* 2012; 21: 153-173
 - 50 Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, Tokuhara M, Takeshita F, Osaki M, Kawamata M, Kato T, Okochi H, Ochiya T. IFATS collection: in vivo therapeutic potential of human adipose tissue mesenchymal stem cells after transplantation into mice with liver injury. *Stem Cells* 2008; 26: 2705-2712

编辑 张姗姗 电编 闫晋利