

肝窦内皮细胞分离、培养与鉴定的研究概况

彭岳, 李树民, 黎桂玉, 马静, 赵铁建

背景资料

肝窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cells, LSEC)作为肝脏中非实质细胞的重要组成部分,能够分泌转化生长因子 β ,后者可作用于肝星状细胞(hepatic stellate cells)表面,促进该细胞的活化,达到介导增强肝纤维化反应的结果。

彭岳, 马静, 赵铁建, 广西中医药大学基础医学院生理学教研室 广西壮族自治区南宁市 530200
李树民, 黎桂玉, 广西中医药大学研究生院 广西壮族自治区南宁市 530200

彭岳, 讲师, 主要从事中药(民族药)逆转肝纤维化机制的研究。
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81160553, 81460628
广西科学研究与技术开发计划基金资助项目, No. 桂科攻13349005

作者贡献分布: 由彭岳综述及论文写作; 由李树民与黎桂玉收集资料; 马静整理文献; 赵铁建审校。

通讯作者: 赵铁建, 教授, 530200, 广西壮族自治区南宁市五合大道13号, 广西中医药大学基础医学院生理学教研室。
ztj-nanning@163.com

电话: 0771-2214279

收稿日期: 2014-09-25 修回日期: 2014-10-28

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2015-02-18

Overview on isolation, cultivation and identification of liver sinusoidal endothelial cells

Yue Peng, Shu-Min Li, Gui-Yu Li, Jing Ma, Tie-Jian Zhao

Yue Peng, Jing Ma, Tie-Jian Zhao, Department of Physiology, School of Basic Medicine, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530200, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Shu-Min Li, Gui-Yu Li, Graduate School of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530200, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81160553 and 81460628; Guangxi Scientific and Technological Development Projects, No. 13349005
Correspondence to: Tie-Jian Zhao, Professor, Department of Physiology, School of Basic Medicine, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, 13 Wuhe Avenue, Nanning 530200, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. ztj-nanning@163.com
Received: 2014-09-25 Revised: 2014-10-28
Accepted: 2014-11-12 Published online: 2015-02-18

an important role in the hepatic physiological and pathological processes, and they have become a hot research topic in recent years. This paper will focus on the isolation, cultivation and identification of LSECs by summarizing and reviewing the latest technologies and methods, with an aim to make a great contribution to the research of LSECs and their roles in the hepatic physiological and pathological processes.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver sinusoidal endothelial cells; Cell isolation and Cell cultivation; Identification

Peng Y, Li SM, Li GY, Ma J, Zhao TJ. Overview on isolation, cultivation and identification of liver sinusoidal endothelial cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(5): 728-734 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/728.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i5.728>

摘要

肝窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cells, LSEC)在肝脏的生理功能和病理机制的发生中扮演重要的角色,成为近年来肝脏研究的热点。本文通过总结并综述近年来LSEC的分离、培养与鉴定的最新技术和方法,重点探讨在该细胞分离、培养与鉴定过程中遇到的研究热点,这对观察和研究LSEC在肝脏生理功能和病理机制中的作用,及基于该细胞的开发研究具有重要的意义,并为研究者提供借鉴。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝窦内皮细胞; 细胞分离和培养; 鉴定

同行评议者

徐泱, 副主任医师, 上海复旦大学附属中山医院

Abstract

Liver sinusoidal endothelial cells (LSECs) play

核心提示: 肝窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cells, LSEC)为近年来肝脏研究的热点, 本文通过总结并综述近年来LSEC的分离、培养与鉴定的最新技术和方法, 对该细胞的开发研究具有重要的意义, 并为研究者提供借鉴.

彭岳, 李树民, 黎桂玉, 马静, 赵铁建. 肝窦内皮细胞分离、培养与鉴定的研究概况. 世界华人消化杂志 2015; 23(5): 728-734
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/728.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i5.728>

0 引言

肝脏是人体各种物质代谢的重要场所, 该器官主要由肝细胞(hepatic cells, HC)、肝窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cells, LSEC)、肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)和枯否细胞(Kupffer cells, KC)等细胞构成, LSEC作为肝脏中非实质细胞的重要组成部分, 成为近年来肝脏研究的热点. 研究^[1-3]发现LSEC组成了肝脏实质细胞与血液之间的半渗透屏障, 并参与肝脏代谢、免疫应答、肝脏内生长因子和细胞因子的分泌和调节过程, 在肝脏的生理功能和病理机制中扮演重要的角色. 近几年来, 通过LSEC与HSC原代细胞共培养发现, LSEC能够预防HSC的活化并促使活化的HSC回归到平静状态, 有效防止肝纤维化的发展^[4,5]; 最新研究^[6,7]发现, LSEC能够分泌转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β), 后者可作用于HSC表面, 促进该细胞的活化, 达到介导增强肝纤维化反应的结果. 由于LSEC在肝纤维化中具有重要的作用, 许多研究肝纤维化的学者都将目光集中于LSEC, 因此系统建立起体外LSEC的分离、培养和鉴定的方法就显得很有必要, 这也是研究、开发和应用LSEC的一项重要的基础工作. 现就近年来LSEC分离、培养与鉴定相关技术和方法的研究进展进行综述, 供读者参考借鉴.

1 LSEC的分离方法

1.1 酶灌注法 世纪70年代, 研究者开始采用胶原酶灌注法进行LSEC的分离, 细胞的活力和得率有了很大提高, 此后这一方法得到了广泛的运用, 肝脏细胞的分离都是应用基于胶原酶灌注消化的方法^[8,9]. Braet等^[10]采用胶原酶灌注结合Percoll密度梯度离心, 选择性贴壁培养

的方法进一步纯化了LSEC. 该方法分离得的LSEC活力 $\geq 95\%$, 细胞纯度为 $73.7\% \pm 5.8\%$, 并且具有操作简单、分离迅速、成本较低等特点.

1.2 免疫磁珠分选法 该方法是将磁性微珠直接或间接偶联在抗体上, 通过抗原抗体特异识别, 使其与带有抗原的细胞相连, 在高强度、梯度磁场中通过分离磁珠进而将目标细胞分离, 其分选效率可随着抗原抗体亲和力大小及可利用表面抗原数量的变化而变化^[11]. 该方法分选出的细胞纯度很高, 因此在细胞分选时得到较广泛的应用^[12].

1.2.1 SE-1免疫磁珠分离法: Tokairin等^[13]应用免疫磁珠法, 用LSEC与其特异性抗体SE-1结合后进行磁性分离, 使分离纯度达到了98%. 该方法具有简单易行、分离纯度高和重复性好等特点, 但是细胞得率相对较低, 且该抗体SE-1的生产目前尚未商业化, 限制了此方法的进一步推广.

1.2.2 CD31免疫磁珠分离法: CD31作为LSEC上一种重要的标记分子, 在LSEC的分离或鉴定中常常具有重要的作用^[14]. 然而DeLeve^[15]曾发现采用免疫磁珠CD31筛选法分离所得的LSEC, 缺少该细胞的标志性结构-窗孔和筛板, 该现象说明CD31可能不再是窗孔化了的LSEC的表面标志分子, 所以该方法可能不能应用于分离窗孔化了的LSEC.

1.2.3 CD45免疫磁珠分离法: 跟其他内皮细胞相比, LSEC是唯一一个表达CD45的内皮细胞, 细胞分离时可作为筛选LSEC的一个辅助条件^[8,16].

1.2.4 CD105免疫磁珠分离法: Katz等^[17]将生物素标记过的CD105抗体与LSEC一同染色, 并用抗生物素的磁珠进行筛选, 将筛选过的细胞培养过夜, 然后检测其中LSEC的细胞纯度, 测得纯度约为91.8%. 然而CD105同样在骨髓细胞和血管内皮上也有表达, 因此用CD105免疫磁珠进行LSEC的筛选时应注意是否有这些细胞的掺杂问题.

1.2.5 CD146免疫磁珠分离法: CD146是一种存在于细胞间或细胞间质的黏附分子, 近几年才开始应用于实验鼠LSEC的分离, 这种磁珠分离相比CD31磁珠分离的特异性更高, 分离出的LSEC纯度 $>90\%$ ^[18,19].

1.3 其他分离法 刘彪等^[20]采用胶原酶灌注

研究前沿 以往LSEC分离、培养与鉴定相关的技术和方法的研究欠缺, 近年来有了长足进步, 目前技术已经能够分离获得高纯度和高活力的LSEC, 这对观察和研究LSEC在肝脏生理功能和病理机制中的作用, 及基于该细胞的开发研究具有重要的意义.

□ 相关报道

目前, LSEC较为常用分离方法是先用链酶蛋白酶和胶原酶灌注进行消化, 再结合密度梯度离心法, 离心后淘洗进一步纯化。

方法结合Percoll密度梯度离心加anti-LSEC microbeads免疫磁珠法分离纯化小鼠LSEC, 该实验操作中运用下腔静脉插管的方法进行肝脏灌注, 相比传统的门静脉插管法简单和方便, 成为一种新的LSEC分离方法。王红霞等^[21]采用选择酶消化法结合免疫磁珠分选法分离裸鼠LSEC, 该方法在免疫磁珠分选过程中的操作方法做了调整, 省去了其中Percoll密度梯度离心的繁杂步骤, 同样获得了高纯度和高活力的LSEC。

在对LSEC的功能和作用机制进行研究时, 如何获取大量高纯度和高活力的LSEC尤为重要, 这也是研究中的关键点和热点问题。目前, LSEC较为常用分离方法是先用链酶蛋白酶和胶原酶灌注进行消化, 再结合密度梯度离心法, 离心后淘洗进一步纯化^[22-24]。该方法分离得的LSEC产量、纯度和活力都很高, 但离心淘洗步骤时操作复杂和成本较高, 并且需要在特殊的仪器上进行。总之, 我们认为在以后的研究中, LSEC的分离方法还会不断改进, 可分离得活力和纯度更好的细胞, 同时分离的操作步骤也可变得更加简单和快捷。

2 LSEC的培养

目前, 国外关于LSEC的具体培养方法虽有报道但并不详细, 而国内在该方面的研究报道甚少。从实验鼠肝中分离得到原代LSEC后, 寻找合适的方法进行培养, 是该研究内容的重要组成部分。LSEC在培养时对培养条件要求苛刻并且很难一直保持分化状态, 细胞表型也不稳定, 极易发生去窗孔并向连续型血管内皮细胞转化^[25]。传统的内皮细胞培养技术无法应用于培养LSEC, 而且该细胞在体外培养时几乎不能增殖, 导致他不能进行长期培养, 所以通常情况下体外培养该细胞活力只能维持3 d左右。世纪80年代, Friedman等^[26]率先研究并公布了LSEC的体外培养方法, 此后研究者便不断对LSEC的条件培养基进行改良。

2.1 其他研究者的改良方法 刘彪等^[20]将分离的LSEC放入含有胶原的六孔板内, 用含有15%的胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)和10 ng/mL的内皮细胞生长因子(endothelial cell growth factor, ECGF)的培养基培养细胞, 该培养条件能使细胞培养的持续时间延长

至1 wk。王红霞等^[21]往培养瓶中加入含青霉素、链霉素双抗和体积分数10%FBS的M199培养基, 能使该细胞体外原代培养周期达到2-3 wk, 而培养3 wk后绝大部分细胞很快会发生凋亡。Rowe等^[27]应用含10%人血清、血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor A, VEGF-A)和肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)的人血管内皮细胞基础培养基来培养LSEC, 细胞活力得到很大的提高, 并且生长状况良好, 细胞形态和排列非常典型。目前研究者常用含10%以上的FBS和1%双抗的最低必需培养基培养LSEC, 能够使细胞的形态和活性维持较好的状态^[28]。

2.2 基于细胞内相关调控机制的培养方法 Ohi等^[29]研究表明LSEC中细胞蛋白的酪氨酸磷酸化状态对体外培养和体内生存都具有关键性的作用, 往培养基中加入原钒酸(orthovanadate, OV)对LSEC的凋亡现象有一定对抗作用。Martinez等^[30]研究发现, 正常生理条件下肝窦中的氧分压低于空气中的氧分压, 空气中的氧分压对LSEC的培养有不利的影 响, 在低氧环境下更适合LSEC的长期培养。Hang等^[31]研究证明在培养LSEC时往含有VEGF的无血清培养基中加入脂质补充剂, 能够提高细胞活力和保持其分化状态, 表明在无血清培养基中游离脂肪酸(free fatty acids, FFAs)能够调制LSEC的细胞表型、存活率和增殖, 能够保持LSEC的活性和促进其增殖, 并有助于该细胞保持分化状态。

2.3 3D培养方法 Kim等^[32]运用3D培养技术模拟了一个更为真实的细胞生存环境, 然后将从实验鼠中原代分离的HC和LSEC进行共同培养, 细胞层由壳聚糖-透明质酸聚电解质多层膜(chitosan-hyaluronic acid polyelectrolyte multilayer, PEM)组成, 作为模拟的Disse间隙, 培养12 d后, 仍能检测到LSEC内相关因子的表达。表明这种3D培养技术能够使LSEC的表型保持12 d以上, 为基于该细胞的进一步研究奠定了基础。

我们认为讨论LSEC的培养方法, 以往研究主要集中在培养时外部条件对细胞的影响, 而该细胞内的分子、免疫、代谢调控机制对细胞生存和繁殖的作用, 将可能是下一步研究的关键及热点问题。

3 LSEC的鉴定

LSEC在肝脏疾病中的作用是目前的研究热点之一, 精确鉴定LSEC, 在肝脏科研的背景下具有重要意义, 因此就有必要对分离的LSEC做进一步的鉴定^[33-35].

3.1 基于窗孔的鉴定方法 正常LSEC具有大量内皮窗孔并且内皮下无完整基底膜, 这是LSEC区别于其他血管内皮细胞最大的结构特征, 这一特征通常用作LSEC的定性依据^[36,37].

3.2 基于表面标志的鉴定方法 相比其他血管内皮细胞, LSEC还表现出血小板内皮细胞黏附分子-1(platelet endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1)的低水平表达, 以及在大鼠的肝脏组织中存在独特的抗体SE-1识别物等特征^[38,39]. 在LSEC的细胞表面还存在透明质酸结合蛋白-2(stabilin-2), 在LSEC上该蛋白的表达与CD34的表达是相互排斥的, 因此该标记分子可以用于鉴别区分对CD34抗体不敏感的人源性LSEC^[40,41]. 在正常LSEC中, 利用vWF、CD14、CD31等抗体都可作为该细胞的鉴定依据, 但应用这些抗体鉴定LSEC时应根据情况选择合适的抗体, 有些标记分子是否在LSEC上表达还存在争议^[42,43].

3.3 基于基因表达的鉴定方法 研究者^[20,44]曾运用RT-PCR方法检测出*LSECtin*基因在分离的小鼠LSEC上高表达, 推测该基因可能会成为LSEC的一种鉴定标志; 但进一步的研究发现, *LSECtin*基因同样在KC表达, 因此该基因作为LSEC的鉴定标志被否定了^[45,46]. 以前的研究^[47,48]曾发现在LSEC中表达瘦素基因, 但该基因能否作为LSEC的鉴定标志, 目前还没有结果.

3.4 其他 淋巴管内皮透明质酸受体-1(lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor-1, LYVE-1)是一个在LSEC表达而在肝脏其他细胞不表达的清道夫受体^[49,50]. 近几年研究^[8,51]表明, 相比于肝细胞, LSEC是凝血因子VIII的主要生产来源, 该因子或许可以成为LSEC区别于肝脏中其他细胞的一种新的鉴定指标.

总之, 对于LSEC的鉴定, 目前研究者依然最常应用细胞的表型标志分子和其独特的形态结构作为鉴定LSEC的依据. 我们认为随着细胞鉴定相关技术的不断提高, 该细胞内更多的特定表达基因将可能会被发现, 鉴定LSEC

也会变地更加简易和可靠.

4 结论

近年来LSEC分离、培养与鉴定相关的技术和方法的研究有了长足进步, 这对观察和研究LSEC在肝脏生理功能和病理机制中的作用, 及基于该细胞的开发研究具有重要的意义. 尽管目前技术已经能够分离获得高纯度和高活力的LSEC, 但是这些常用的分离方法成本较高且操作复杂; 而且培养该细胞时, 其内部的分子、免疫、代谢调控机制对细胞的活力和繁殖的影响仍然值得进一步研究; 寻找细胞内更多的特定表达基因对LSEC进行更准确更简易地鉴定也应该成为下一步研究的热点问题. LSEC在肝纤维化和肝脏免疫功能的机制研究中具有重要作用, 随着细胞分离、培养与鉴定相关技术方法的不断革新, LSEC的生理结构和病理机制将会得到更为完善的阐述, 这将为探讨该细胞的功能及其在肝脏病理生理过程中的作用及机制的研究奠定了基础.

5 参考文献

- 1 Fomin ME, Zhou Y, Beyer AI, Publicover J, Baron JL, Muench MO. Production of factor VIII by human liver sinusoidal endothelial cells transplanted in immunodeficient uPA mice. *PLoS One* 2013; 8: e77255 [PMID: 24167566 DOI: 10.1371/journal.pone.0077255]
- 2 Liu J, Jiang M, Ma Z, Dietze KK, Zelinskyy G, Yang D, Dittmer U, Schlaak JF, Roggendorf M, Lu M. TLR1/2 ligand-stimulated mouse liver endothelial cells secrete IL-12 and trigger CD8+ T cell immunity in vitro. *J Immunol* 2013; 191: 6178-6190 [PMID: 24227786 DOI: 10.4049/jimmunol.1301262]
- 3 Carambia A, Frenzel C, Bruns OT, Schwinge D, Reimer R, Hohenberg H, Huber S, Tiegs G, Schramm C, Lohse AW, Herkel J. Inhibition of inflammatory CD4 T cell activity by murine liver sinusoidal endothelial cells. *J Hepatol* 2013; 58: 112-118 [PMID: 22989568 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.09.008]
- 4 Deleve LD, Wang X, Guo Y. Sinusoidal endothelial cells prevent rat stellate cell activation and promote reversion to quiescence. *Hepatology* 2008; 48: 920-930 [PMID: 18613151 DOI: 10.1002/hep.22351]
- 5 Xie G, Wang X, Wang L, Wang L, Atkinson RD, Kanel GC, Gaarde WA, Deleve LD. Role of differentiation of liver sinusoidal endothelial cells in progression and regression of hepatic fibrosis in rats. *Gastroenterology* 2012; 142: 918-927.e6 [PMID: 22178212 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.12.017]
- 6 Sakata K, Eda S, Lee ES, Hara M, Imoto M,

创新盘点

本文总结并综述近年来LSEC的分离、培养与鉴定的最新技术和方法, 及其过程中遇到的研究热点, 这对观察和研究LSEC在肝脏生理功能和病理机制中的作用, 及基于该细胞的开发研究具有重要的意义.

应用要点

本文总结并评述LSEC分离、培养与鉴定相关技术方法的革新, 及在该细胞分离、培养与鉴定过程中遇到的研究热点, 这将有利于LSEC的生理结构和病理机制更为完善的阐述, 为探讨该细胞的功能及其在肝脏病理生理过程中作用及机制的研究奠定了基础。

- 7 Carambia A, Freund B, Schwinge D, Heine M, Laschtowitz A, Huber S, Wraith DC, Korn T, Schramm C, Lohse AW, Heeren J, Herkel J. TGF- β -dependent induction of CD4+CD25+Foxp3+ Tregs by liver sinusoidal endothelial cells. *J Hepatol* 2014; 61: 594-599 [PMID: 24798620 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.04.027]
- 8 Yadav N, Kanjirakkuzhiyil S, Ramakrishnan M, Das TK, Mukhopadhyay A. Factor VIII can be synthesized in hemophilia A mice liver by bone marrow progenitor cell-derived hepatocytes and sinusoidal endothelial cells. *Stem Cells Dev* 2012; 21: 110-120 [PMID: 21480781 DOI: 10.1089/scd.2010.0569]
- 9 Gerlach JC, Zeilinger K, Spatkowski G, Hentschel F, Schnoy N, Kolbeck S, Schindler RK, Neuhaus P. Large-scale isolation of sinusoidal endothelial cells from pig and human liver. *J Surg Res* 2001; 100: 39-45 [PMID: 11516203 DOI: 10.1006/jsre.2001.6224]
- 10 Braet F, De Zanger R, Sasaoki T, Baekeland M, Janssens P, Smedsrød B, Wisse E. Assessment of a method of isolation, purification, and cultivation of rat liver sinusoidal endothelial cells. *Lab Invest* 1994; 70: 944-952 [PMID: 8015298]
- 11 贺亚南, 陈晓丽, 任晓霞, 郝海生, 秦彤, 赵学明, 路永强, 王栋. 免疫磁珠纯化小鼠精原干细胞的研究. *中国生物工程杂志* 2014; 7: 38-43
- 12 Guo J, Xiao B, Zhang X, Jin Z, Chen J, Qin L, Mao X, Shen G, Chen H, Liu Z. Combined use of positive and negative immunomagnetic isolation followed by real-time RT-PCR for detection of the circulating tumor cells in patients with colorectal cancers. *J Mol Med (Berl)* 2004; 82: 768-774 [PMID: 15490093]
- 13 Tokairin T, Nishikawa Y, Doi Y, Watanabe H, Yoshioka T, Su M, Omori Y, Enomoto K. A highly specific isolation of rat sinusoidal endothelial cells by the immunomagnetic bead method using SE-1 monoclonal antibody. *J Hepatol* 2002; 36: 725-733 [PMID: 12044521 DOI: 10.1016/S0168-8278(02)00048-X]
- 14 Lalor PF, Edwards S, McNab G, Salmi M, Jalkanen S, Adams DH. Vascular adhesion protein-1 mediates adhesion and transmigration of lymphocytes on human hepatic endothelial cells. *J Immunol* 2002; 169: 983-992 [PMID: 12097405 DOI: 10.4049/jimmunol.169.2.983]
- 15 DeLeve LD, Wang X, McCuskey MK, McCuskey RS. Rat liver endothelial cells isolated by anti-CD31 immunomagnetic separation lack fenestrae and sieve plates. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 291: G1187-G1189 [PMID: 16782698 DOI: 10.1152/ajpgi.00229.2006]
- 16 Xie G, Wang L, Wang X, Wang L, DeLeve LD. Isolation of periportal, midlobular, and centrilobular rat liver sinusoidal endothelial cells enables study of zonated drug toxicity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G1204-G1210 [PMID: 20813915 DOI: 10.1152/ajpgi.00302.2010]
- 17 Kojima S. Neovessel formation promotes liver fibrosis via providing latent transforming growth factor- β . *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 443: 950-956 [PMID: 24361885 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.12.074]
- 18 Hutchins NA, Chung CS, Borgerding JN, Ayala CA, Ayala A. Kupffer cells protect liver sinusoidal endothelial cells from Fas-dependent apoptosis in sepsis by down-regulating gp130. *Am J Pathol* 2013; 182: 742-754 [PMID: 23306157 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.11.023]
- 19 Seckert CK, Renzaho A, Tervo HM, Krause C, Deegen P, Kühnapfel B, Reddehase MJ, Grzimek NK. Liver sinusoidal endothelial cells are a site of murine cytomegalovirus latency and reactivation. *J Virol* 2009; 83: 8869-8884 [PMID: 19535440 DOI: 10.1128/JVI.00870-09]
- 20 刘彪, 傅童生, 唐丽, 贺福初. 一种改良的小鼠肝窦内皮细胞的分离、纯化、培养及鉴定方法. *细胞生物学杂志* 2009; 31: 437-442
- 21 王红霞, 邓永健, 蒋强, 唐娜, 胡纯婷, 张江宇, 丁彦青. 裸鼠肝窦内皮细胞的分离、培养及鉴定. *中国组织工程研究* 2012; 16: 2789-2792
- 22 Shafiei MS, Lui S, Rockey DC. Integrin-linked kinase regulates endothelial cell nitric oxide synthase expression in hepatic sinusoidal endothelial cells. *Liver Int* 2014 Jun 6. [Epub ahead of print] [PMID: 24906011 DOI: 10.1111/liv.12606]
- 23 Xie G, Choi SS, Syn WK, Michelotti GA, Swiderska M, Karaca G, Chan IS, Chen Y, Diehl AM. Hedgehog signalling regulates liver sinusoidal endothelial cell capillarisation. *Gut* 2013; 62: 299-309 [PMID: 22362915 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301494]
- 24 Sterzer V, Alsamman M, Weiskirchen R, Trautwein C, Scholten D. Optimization purity of isolated primary liver endothelial cells (LSEC) using adenoviral gene transfer. *Z Gastroenterol* 2014; 52: 1-30 [DOI: 10.1055/s-0033-1360874]
- 25 劳远翔, 贺福初, 姜颖. 肝窦内皮细胞生理功能及病理过程的分子机制. *中国生物化学与分子生物学报* 2012; 28: 609-616
- 26 Friedman SL, Roll FJ. Isolation and culture of hepatic lipocytes, Kupffer cells, and sinusoidal endothelial cells by density gradient centrifugation with Stractan. *Anal Biochem* 1987; 161: 207-218 [PMID: 3578783 DOI: 10.1016/0003-2697(87)90673-7]
- 27 Rowe IA, Galsinh SK, Wilson GK, Parker R, Durant S, Lazar C, Branza-Nichita N, Bicknell R, Adams DH, Balfe P, McKeating JA. Paracrine signals from liver sinusoidal endothelium regulate hepatitis C virus replication. *Hepatology* 2014; 59: 375-384 [PMID: 23775568 DOI: 10.1002/hep.26571]
- 28 Zhang LJ, Sun MY, Ning BB, Zhang WM, Chen GF, Mu YP, Zhang H, Liu J, Bian YQ, Liu P. Xiayuxue Decoction ([symbols; see text]) attenuates hepatic stellate cell activation and sinusoidal endothelium defenestration in CCl4-induced fibrotic liver of mice. *Chin J Integr Med* 2014; 20: 516-523 [PMID: 24972579 DOI: 10.1007/s11655-014-1862-y]
- 29 Ohi N, Nishikawa Y, Tokairin T, Yamamoto Y, Doi Y, Omori Y, Enomoto K. Maintenance of Bad

- phosphorylation prevents apoptosis of rat hepatic sinusoidal endothelial cells in vitro and in vivo. *Am J Pathol* 2006; 168: 1097-1106 [PMID: 16565486 DOI: 10.2353/ajpath.2006.050462]
- 30 Martinez I, Nedredal GI, Øie CI, Warren A, Johansen O, Le Couteur DG, Smedsrød B. The influence of oxygen tension on the structure and function of isolated liver sinusoidal endothelial cells. *Comp Hepatol* 2008; 7: 4 [PMID: 18457588 DOI: 10.1186/1476-5926-7-4]
 - 31 Hang TC, Lauffenburger DA, Griffith LG, Stolz DB. Lipids promote survival, proliferation, and maintenance of differentiation of rat liver sinusoidal endothelial cells in vitro. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G375-G388 [PMID: 22075778 DOI: 10.1152/ajpgi.00288.2011]
 - 32 Kim Y, Rajagopalan P. 3D hepatic cultures simultaneously maintain primary hepatocyte and liver sinusoidal endothelial cell phenotypes. *PLoS One* 2010; 5: e15456 [PMID: 21103392 DOI: 10.1371/journal.pone.0015456]
 - 33 Gervaz P, Scholl B, Mainguene C, Poitry S, Gillet M, Wexner S. Angiogenesis of liver metastases: role of sinusoidal endothelial cells. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 980-986 [PMID: 10910247 DOI: 10.1007/BF02237364]
 - 34 Iinuma N, Sakurai T, Kamiyoshi A, Ichikawa-Shindo Y, Arai T, Yoshizawa T, Koyama T, Uetake R, Kawate H, Muto S, Tagawa Y, Miyagawa S, Shindo T. Adrenomedullin in sinusoidal endothelial cells play protective roles against cold injury of liver. *Peptides* 2010; 31: 865-871 [PMID: 20132855 DOI: 10.1016/j.peptides.2010.01.011]
 - 35 Gracia-Sancho J, Laviña B, Rodríguez-Vilarrupla A, García-Calderó H, Bosch J, García-Pagán JC. Enhanced vasoconstrictor prostanoid production by sinusoidal endothelial cells increases portal perfusion pressure in cirrhotic rat livers. *J Hepatol* 2007; 47: 220-227 [PMID: 17459512 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.03.014]
 - 36 李景强, 吴诚, 张园, 王玖恒, 赵铁建. 肝纤维化肝窦内皮细胞免疫功能改变的研究进展. *细胞与分子免疫学杂志* 2012; 28: 776-777
 - 37 DeLeve LD, Wang X, Hu L, McCuskey MK, McCuskey RS. Rat liver sinusoidal endothelial cell phenotype is maintained by paracrine and autocrine regulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G757-G763 [PMID: 15191879]
 - 38 March S, Hui EE, Underhill GH, Khetani S, Bhatia SN. Microenvironmental regulation of the sinusoidal endothelial cell phenotype in vitro. *Hepatology* 2009; 50: 920-928 [PMID: 19585615 DOI: 10.1002/hep.23085]
 - 39 Sellaro TL, Ravindra AK, Stolz DB, Badylak SF. Maintenance of hepatic sinusoidal endothelial cell phenotype in vitro using organ-specific extracellular matrix scaffolds. *Tissue Eng* 2007; 13: 2301-2310 [PMID: 17561801 DOI: 10.1089/ten.2006.0437]
 - 40 Bioulac-Sage P, Lepreux S, Schledzewski K, Cubel G, Géraud C, Goerdt S, Balabaud C. Identification of liver sinusoidal endothelial cells in the human liver. *Liver Int* 2010; 30: 773-776 [PMID: 20331503 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02222.x]
 - 41 Jung MY, Park SY, Kim IS. Stabilin-2 is involved in lymphocyte adhesion to the hepatic sinusoidal endothelium via the interaction with alphaMbeta2 integrin. *J Leukoc Biol* 2007; 82: 1156-1165 [PMID: 17675564 DOI: 10.1189/jlb.0107052]
 - 42 Zhu J, Chen P, Dong JH, Dong XL, Yang LH, Xiong Y. [Isolation, cultivation and identification of liver sinusoidal endothelial cells in rats]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2004; 12: 633-634 [PMID: 15504304]
 - 43 Lalor PF, Lai WK, Curbishley SM, Shetty S, Adams DH. Human hepatic sinusoidal endothelial cells can be distinguished by expression of phenotypic markers related to their specialised functions in vivo. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5429-5439 [PMID: 17006978]
 - 44 Tang L, Yang J, Liu W, Tang X, Chen J, Zhao D, Wang M, Xu F, Lu Y, Liu B, Sun Q, Zhang L, He F. Liver sinusoidal endothelial cell lectin, LSECTin, negatively regulates hepatic T-cell immune response. *Gastroenterology* 2009; 137: 1498-1508.e1-5 [PMID: 19632227 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.07.051]
 - 45 Liu B, Wang M, Wang X, Zhao D, Liu D, Liu J, Chen PJ, Yang D, He F, Tang L. Liver sinusoidal endothelial cell lectin inhibits CTL-dependent virus clearance in mouse models of viral hepatitis. *J Immunol* 2013; 190: 4185-4195 [PMID: 23487419 DOI: 10.4049/jimmunol.1203091]
 - 46 Domínguez-Soto A, Aragonese-Fenoll L, Gómez-Aguado F, Corcuera MT, Clària J, García-Monzón C, Bustos M, Corbí AL. The pathogen receptor liver and lymph node sinusoidal endothelial cell C-type lectin is expressed in human Kupffer cells and regulated by PU.1. *Hepatology* 2009; 49: 287-296 [PMID: 19111020 DOI: 10.1002/hep.22678]
 - 47 Reyes MR, Lazalde B, Posadas del Rio FA, Escalante B. Identification of leptin gene expression in sinusoidal endothelial rat liver cells. *Endothelium* 2008; 15: 121-125 [PMID: 18568952 DOI: 10.1080/10623320802125185]
 - 48 Ikejima K, Okumura K, Lang T, Honda H, Abe W, Yamashina S, Enomoto N, Takei Y, Sato N. The role of leptin in progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2005; 33: 151-154 [PMID: 16198623 DOI: 10.1016/j.hepres.2005.09.024]
 - 49 Mouta Carreira C, Nasser SM, di Tomaso E, Padera TP, Boucher Y, Tomarev SI, Jain RK. LYVE-1 is not restricted to the lymph vessels: expression in normal liver blood sinusoids and down-regulation in human liver cancer and cirrhosis. *Cancer Res* 2001; 61: 8079-8084 [PMID: 11719431]
 - 50 Arai T, Sakurai T, Kamiyoshi A, Ichikawa-Shindo Y, Iinuma N, Iesato Y, Koyama T, Yoshizawa T, Uetake R, Yamauchi A, Yang L, Kawate H, Ogawa S, Kobayashi A, Miyagawa S, Shindo T. Induction of LYVE-1/stabilin-2-positive liver sinusoidal endothelial-like cells from embryoid bodies by modulation of adrenomedullin-RAMP2 signaling. *Peptides* 2011; 32: 1855-1865 [PMID: 21782867 DOI: 10.1016/j.

名词解释

免疫磁珠分选法: 该方法是将磁性微珠直接或间接偶联在抗体上, 通过抗原抗体特异识别, 使其与带有抗原的细胞相连, 在高强度、梯度磁场中通过分离磁珠进而将目标细胞分离, 其分选效率可随着抗原抗体亲和力和大小及可利用表面抗原数量的变化而变化。

同行评价

本文综述了LSEC分离、培养与鉴定的最新研究进展, 认为其可以为研究者提供借鉴, 对探讨该细胞在肝脏病理生理过程中作用及机制有重要意义。

- 51 peptides.2011.07.005]
Shahani T, Covens K, Lavend'homme R, Jazouli N, Sokal E, Peerlinck K, Jacquemin M. Human liver

sinusoidal endothelial cells but not hepatocytes contain factor VIII. *J Thromb Haemost* 2014; 12: 36-42 [PMID: 24118899 DOI: 10.1111/jth.12412]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

•消息•

《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

本刊讯 为了促进消化护理学领域的事业发展,《世界华人消化杂志》已成立消化护理学编辑委员会. 将主要报道消化护理学的基础研究, 临床研究, 临床护理实践和护理管理等原始和综述性文章.

《世界华人消化杂志》成立消化护理学编辑委员会, 由周谊霞副教授(http://www.wjgnet.com/1009-3079/edboard_706.htm)等31位专家组成, 分布在14个省市. 其中上海市6位, 黑龙江省4位, 辽宁省4位, 河北省3位, 北京市2位, 山东省2位, 陕西省2位, 贵州省2位, 安徽省1位, 湖北省1位, 河南省1位、浙江省1位, 四川省1位和吉林省1位. 均来自高等院校和附属医院, 其中主任护师6位, 副主任护师18位, 副教授3位, 主管护师4位.

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的一份学术刊物. 我们真心欢迎消化内科, 消化外科等领域从事护理学工作者积极宣传和踊跃投稿至《世界华人消化杂志》. 请在线投稿, 网址见: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>

《世界华人消化杂志》2014年收到自由投稿和约稿2192篇. 出版手稿937篇(42.7%), 退稿1220篇(55.7%). 邀请476位编委参与同行评议.

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)编辑和出版. BPG主要从事43种国际性生物医学刊物的编辑和出版工作, 包括旗舰刊物《世界胃肠病学杂志(*World Journal of Gastroenterology, WJG*)》.(郭鹏)