

# 骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病的若干问题

吴海军, 肖恩华

吴海军, 肖恩华, 中南大学湘雅二医院放射科 湖南省长沙市 410011

国家自然科学基金资助项目, No. 30070235, No. 30470508

湖南省自然科学基金资助项目, No. 06JJ20081

湖南省中医药管理局科研基金资助项目, No. 202064, No. 204057

湖南省科技厅科研基金资助项目, No. 04-SK-306-2

长沙市科技计划项目资助项目, No. K071532-11

作者贡献分布: 本文写作及文献采集归纳由吴海军完成; 与本综述相关课题设计、论文修改及审校由肖恩华完成。

通讯作者: 肖恩华, 410011, 湖南省长沙市, 中南大学湘雅二医院放射科. [cjr.xiaoenhua@vip.163.com](mailto:cjr.xiaoenhua@vip.163.com)

电话: 0731-5292116

收稿日期: 2008-03-23 修回日期: 2008-06-28

接受日期: 2008-07-07 在线出版日期: 2008-09-08

## Several issues about bone marrow stem cell transplantation for liver diseases

Hai-Jun Wu, En-Hua Xiao

Hai-Jun Wu, En-Hua Xiao, Department of Radiology, the Second Xiangya Hospital, Xiangya Medical School of Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30070235, No. 30470508; the Natural Science Foundation of Hunan Province, No. 06JJ20081; the Traditional Chinese Medicine Administration Research Foundation of Hunan Province, No. 202064, No. 204057; the Science and Technology Commission Foundation of Hunan Province, No. 04-SK-306-2; and the Science and Technology Project of Changsha City, No. K071532-11

Correspondence to: En-Hua Xiao, Department of Radiology, the Second Xiangya Hospital, Xiangya Medical School of Central-South University, Changsha 410011, Hunan Province, China. [cjr.xiaoenhua@vip.163.com](mailto:cjr.xiaoenhua@vip.163.com)

Received: 2008-03-23 Revised: 2008-06-28

Accepted: 2008-07-07 Published online: 2008-09-08

## Abstract

Recently, many studies reported that bone marrow stem cells (BMSCs) had the ability to differentiate into hepatocytes and cholangiocytes in normal livers or in some pathologic environments and to generate functional hepatocytes to restore the injured livers by cell transplantation. This review is designed as a state-of-the-art survey taking into account current knowledge and published work, including the evidence from animal models, the possible mechanisms and

conditions, future application modalities for the clinical use of cellular-derived therapeutics for patients with liver diseases.

**Key Words:** Liver disease; Bone marrow cells; Transplantation

Wu HJ, Xiao EH. Several issues about bone marrow stem cell transplantation for liver diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(25): 2859-2866

## 摘要

最近诸多研究已经报道了骨髓干细胞在正常肝脏及一些肝脏病理条件下能够分化为有功能的肝细胞和胆管细胞且可修复受损肝脏。本综述就当前骨髓源性肝脏干细胞研究水平进行回顾, 涵盖了最新的知识和已发表的文献, 包括: 来自动物模型的证据、可能的机制和条件, 未来临床应用细胞移植治疗肝病的方式等。

**关键词:** 肝脏疾病; 骨髓细胞; 移植

吴海军, 肖恩华. 骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病的若干问题. *世界华人消化杂志* 2008; 16(25): 2859-2866

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/2859.asp>

## 0 引言

自从Berry和Friend于1969年借助胶原酶消化技术分离出肝细胞以来, 实验动物研究已经证实肝细胞移植具有治疗肝衰竭以及肝脏先天性代谢病的潜能。当前, 临床上肝细胞移植具有了替代原位肝移植治疗肝衰竭的趋势, 然而, 健康人成体肝细胞来源的缺乏限制了其临床应用。大多数情况下, 移植肝细胞来源于手术丢弃的肝组织, 往往合并有过度的脂肪沉积而不适合移植。更为重要的是其分离步骤本身就加重了细胞破坏, 导致肝细胞调亡。因此, 临床上需要寻找新的肝细胞源。人骨髓分离的间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)具有在活体内外分化为肝细胞的潜能, 有望成为新的肝细胞源治疗肝脏疾病<sup>[1-5]</sup>。本文

## ■背景资料

当前原位肝移植是治疗终末期肝病及肝衰竭的主要方法, 但因正常肝脏供体的缺乏使人们将注意力转向肝脏干细胞。骨髓干细胞是研究最为广泛的肝脏干细胞, 近期研究证实骨髓干细胞移植能够修复受损肝脏, 为提高肝功能衰竭的防治水平提供了新的思路。

## ■同行评议者

余宏宇, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属长征医院病理科

## ■ 研发前沿

骨髓干细胞移植  
治疗肝脏疾病是  
目前医学领域研  
究的热点。

就BMSCs移植治疗肝脏疾病的研究进展及目前存在的问题作一综述。

## 1 BMSCs分化为肝细胞的证据

BMSCs作为肝脏干细胞的直接证据是其在活体内、外均能够分化为具有肝细胞功能的细胞。实验已证实骨髓中含有能够直接分化为肝细胞的细胞成分,即为起源于骨髓的肝脏干细胞。Avital *et al*<sup>[6]</sup>就从骨髓中直接分离出 $\beta_2m^-/Thy^+$ 细胞,此类细胞不仅能表达白蛋白、AFP、细胞角蛋白(cytokeratins, CK)8、CK18等肝系细胞特异性标志,也具有胆管细胞特性。Schwartz *et al*<sup>[7]</sup>发现细胞生长环境(如生长因子及细胞外基质)对调节BMSCs向肝细胞系特异性分化起至关重要的作用。他们将体外培养的BMSCs中加入肝细胞生长因子(HGF)及成纤维细胞生长因子-4(FGF-4)后同样诱导分化出具有肝细胞特异性标志及超微结构的肝样细胞。此外,Okumoto *et al*<sup>[8]</sup>发现体外将BMSCs与肝细胞共同培养也有利于其向肝细胞分化。他们将BMSCs与肝细胞在体外共同培养后,发现BMSCs不仅可以分化为肝细胞系,并且与成熟肝细胞一样表达肝细胞特异因子mRNA,包括白蛋白。

诸多动物模型实验证实BMSCs移植到活体损伤肝组织内也可分化为有功能的肝细胞,活体肝损伤的诱导分化是目前主要的研究方向。Petersen *et al*<sup>[9]</sup>对一组受到致死性照射的小鼠予以骨髓移植,在移植前给予2-乙酰氨基苊(2-acetylaminofluorene, 2-AAF)抑制宿主肝细胞再生同时给予四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>)诱导肝损伤,检查发现在受体鼠肝脏内存在有来自于供体骨髓衍生的肝细胞。Theise *et al*<sup>[10]</sup>将♂小鼠的骨髓注入到受照射损伤的雌鼠体内,检测发现所有♀肝组织内均有显著表达Y染色体和白蛋白mRNA的雄鼠骨髓细胞衍生的肝细胞。Oh *et al*<sup>[11]</sup>将二肽基肽酶IV阳性(DPPIV(+))的鼠骨髓移植到2-AAF联合70%肝切除诱导的DPPIV(-)小鼠肝损伤模型后,在受体肝脏内发现有数量约20%的DPPIV(+)肝细胞以及卵圆细胞。Zhan *et al*<sup>[12]</sup>将自体BMSCs移植到CCl<sub>4</sub>诱导的鼠肝纤维化模型内,6 wk后检测发现植入的细胞分化为表达肝系细胞特异性标志物的细胞。

## 2 BMSCs在肝内分化的条件

临床及实验动物研究<sup>[13-14]</sup>均表明BMSCs的增殖分化大多数情况下发生在严重的肝损伤或慢性

肝病的肝脏内,在正常肝组织中很少发现。从而推测肝脏损伤是BMSCs迁移活化的先决条件。Lagasse *et al*<sup>[15]</sup>的研究除发现移植的BMSCs仅在受损的肝脏中具有生存优势以外,还证实了肝内移植的BMSCs转分化的水平随着肝脏损伤程度的加重(中度到重度)也相应增加。此外,Hong *et al*<sup>[16]</sup>发现体外培养的BMSCs在受损肝血清的诱导下同样可分化为肝细胞。他们将2-AAF/CCl<sub>4</sub>联合诱导的鼠肝损伤血清诱导培养BMSCs后,发现其表达幼稚肝细胞的标志物-丙酮酸激酶的同功酶M2(M2-PK)及肝脏发育的标志物integrin- $\beta$ 1,而无血清刺激或正常血清培养的BMSCs均未表达上述标志物。

然而,BMSCs分化是否仅发生在受损的肝脏内也存在争议,Wagers *et al*<sup>[17]</sup>研究发现移植的BMSCs在正常肝脏内仍可以分化为肝细胞,只是处于较低的水平。他们将鼠BMSCs移植到无特异性肝损伤的小鼠体内,在受体肝脏内仍可检测出BMSCs衍生的肝细胞,但发生率较低,约为1/70 000。尽管目前大多数研究支持肝损伤调节植入干细胞的分化,但正如上述所报道的结果仍存在显著的差异,究其原因分析可能与各实验模型应用的不同干细胞亚群有关。最初的研究主要是未分群的骨髓细胞,随后发现CD34<sup>+</sup>的细胞具有显著的肝脏再生能力<sup>[10]</sup>。以后发现SP亚群也具备相似的多向分化能力<sup>[18]</sup>,然而SP亚群却富含CD34<sup>+</sup>细胞<sup>[9]</sup>。由此可见实验方法的不同可能也与报道结果的差异有关。

## 3 动物模型实验应用到临床的依据

尽管干细胞的生物学特性在动物模型的研究方面已经明确,但其临床应用需要提供人干细胞具有相同特性的确凿证据。已有报道显示人类肝脏干细胞在多种急、慢性肝病的表型和组织反应与先前在动物模型观察到的结果相似<sup>[20]</sup>。Alison *et al*<sup>[21]</sup>对人同种干细胞移植的观察中发现,人BMSCs可以衍生为肝细胞和胆管上皮细胞。他们对接受性别错配的骨髓移植或肝移植的患者进行肝组织活检,通过对Y染色体荧光原位杂交检测发现有供体骨髓衍生的肝细胞和胆管上皮细胞。Theise *et al*<sup>[22]</sup>的报道也显示,在接受骨髓移植患者的肝内,约4%-43%的肝细胞和4%-38%的胆管细胞来源于BMSCs的横向分化。不仅如此,体外分离的人BMSCs移植到活体动物模型内也可分化为肝细胞,进一步证实了人BMSCs的肝细胞分化潜能,为临床应用BMSCs

移植治疗肝病奠定了理论基础. Newsome *et al*<sup>[23]</sup>将人脐血干细胞植入非致死性照射的非肥胖性糖尿病/重度联合免疫缺陷病(NOD/SCID)的小鼠体内, 处死后检查发现鼠肝内存在有人肝细胞. Ishikawa *et al*<sup>[24]</sup>将人BMSCs同样植入到鼠NOD/SCID模型, 通过RT-PCR检测出植入细胞产生的人血白蛋白mRNA. Kakinuma *et al*<sup>[25]</sup>将人脐血干细胞植入到1/3肝脏切除联合2-AAF诱导的肝损伤动物模型后, 受体肝脏内也鉴定出人脐血干细胞衍生的有功能的肝细胞. Wang *et al*<sup>[26]</sup>将人HSC移植到鼠肝免疫损伤模型, 同样在模型鼠肝内检测出表达人血白蛋白mRNA的肝细胞.

#### 4 植入干细胞分化为肝细胞的机制

在对于肝脏内干细胞分化机制的研究中, 植入干细胞是转分化(transdifferentiation)成为宿主细胞还是与宿主细胞融合(cell fusion)也是近期争论的焦点. 转分化可以定义为一类定型细胞在周围环境的诱导下直接转变为另一细胞类型. 上述报道均支持转分化的观点, 尤其是体外试验. 体内试验因转分化的细胞数量有限且无法解释宿主细胞的去向问题而备受争议. 因为假如BMSCs能够分化为另一组织的干细胞, 那么从理论上说这些少数的起始细胞也能够再生出整个器官. 对移植供体细胞的基因学分析已经揭示了另一种可能的机制, 那就是供体与宿主的细胞融合产生了成熟的组织细胞, 其间没有转或去分化发生. 融合产生的异核体细胞能够治愈一些致命的基因缺陷病并且似乎不易发生癌变<sup>[27]</sup>. 诸多实验也证实了细胞融合的观点. Terada *et al*<sup>[28]</sup>将标记的鼠骨髓细胞与胚胎细胞体外共同培养, 结果发现传代的细胞群落表达骨髓细胞标记物的同时又与胚胎细胞的形态及生长动力学相似. 故认为融合促进了转分化. 另一项研究显示将野生型的雄鼠骨髓细胞植入到延胡索酸乙酰乙酸酶(FAH)缺乏的雌鼠体内, 结果雌鼠肝脏内产生了表达FAH的肝脏结节. 结节切除后提取基因组DNA并通过探针检测FAH序列和Y染色体序列的基因数量, 发现所有宿主肝脏结节的基因数量(约为26%)均低于供体骨髓细胞DNA的基因数量(>90%), 提示供体骨髓细胞不能直接转化为肝细胞<sup>[29]</sup>. Wang *et al*<sup>[30]</sup>将BMSCs移植到鼠肝损伤模型, 通过对受体肝细胞DNA检测发现超过一半的细胞染色体组与受体相同或是与受体融合的产物, 同样支持干细胞移植后与宿主细胞融合的观点. Dahlke *et al*<sup>[31]</sup>

将BMSCs移植到T细胞免疫介导的鼠肝炎模型后, 发现骨髓衍生的肝细胞的细胞核包含有供体和受体两种细胞核成分, 提示BMSCs对免疫介导的肝炎的修复是通过细胞融合完成的.

与上述观点相反研究也见报道, 在人类肝脏干细胞移植到鼠模型的实验中, 通过对鼠及人细胞核染色并未显示细胞融合的任何证据<sup>[23-24]</sup>, 提示细胞融合对转分化几乎不起作用. Jiang *et al*<sup>[32]</sup>将HSCs与受损肝组织共同培养, 免疫荧光检测HSCs失去了正常的表型并且开始表达白蛋白, 上述结果细胞融合同样无法解释.

#### 5 BMSCs移植治疗肝脏疾病的动物实验证据、临床证据和疗效

肝纤维化既是大多数慢性肝病的主要特征, 也是慢性肝病向肝硬化、肝癌和肝功能衰竭发展的必经过程. 通常认为肝纤维化是进行性加重的病程, 然而已有研究证实自体BMSCs移植可有效逆转其病程, 促进肝纤维化的消退. 将有望成为顽固性肝纤维化的新的治疗策略. Higashiyama *et al*<sup>[33]</sup>将表达增强绿色荧光蛋白(EGFP)的鼠BMSCs移植到CCl<sub>4</sub>诱导的鼠肝损伤模型, 不同时间观察发现大量EGFP(+)细胞定位于肝纤维化的中心区域, 并且发现其数量随着肝纤维化的修复而减少. Wu *et al*<sup>[34]</sup>报道将中药归元方联合自体BMSCs移植到大鼠肝纤维化模型, 结果显示肝损伤区域减小, 肝功能及肝纤维化评分均有改善, 肝组织羟脯氨酸的含量降低, 免疫组化显示移植的骨髓干细胞能在肝损伤、肝纤维化形成环境中存活、增殖, 并向肝细胞分化. BMSCs移植对肝纤维化的修复除通过分化为肝细胞改善肝功能外, 尚可通过减少肝脏内胶原沉着发挥抗纤维化效应. Abdel Aziz *et al*<sup>[35]</sup>将鼠BMSCs细胞通过尾静脉移植到CCl<sub>4</sub>诱导的鼠肝纤维化模型内, 结果显示模型鼠肝脏胶原基因的表达及羟脯氨酸的含量均降低, 表现了显著的抗肝脏纤维化效应. Zhan *et al*<sup>[12]</sup>将自体BMSCs移植到鼠CCl<sub>4</sub>诱导的肝纤维化模型, 发现植入干细胞可有效地分化为肝细胞, 但不能表达 $\alpha$ -平滑肌动蛋白, 即不能分化为肝星形细胞, 后者在肝纤维化形成中起到关键作用. 间接证实了自体BMSCs移植有助于治疗肝纤维化. 所有上述动物模型报道解决了临床细胞移植需要的健康原代细胞的问题, 也进一步明确了BMSCs具有多向分化潜能, 有望成为细胞移植治疗的靶细胞.

#### ■ 相关报道

Oertel *et al*认为受损肝脏再生发生在3种相对独立的水平: 肝细胞、肝内干细胞(卵圆细胞)和肝外干细胞. 前两种细胞在肝组织损伤后增殖能力有限, 而外生性的肝脏干细胞来源于骨髓干细胞, 可以对烯丙醇损伤以及肝癌形成后的肝损伤作出应答. 虽然数量较少, 但此类细胞可以多向分化且具有非常强的增殖潜能, 对肝细胞再生意义重大.



# ■创新盘点

本文从骨髓干细胞分化活体内、外为肝细胞的证据、可能的分化的机制、移植到肝脏的方式、细胞数量等相关热点问题展开论述。

临床上干细胞移植通常需要在体外培养扩增,体外培养过程中干细胞是否会发生自发性分化甚至发生突变将直接影响着治疗的安全性,这就要求我们寻找人干细胞体外培养安全性的直接证据。Sawada *et al*<sup>[36]</sup>观察人BMSCs体外培养从原代到12代的3 mo中,增殖率逐渐下降,细胞形态未见明显变化,细胞增殖基因的表达也显著不同于癌细胞。由此可见Child-Pugh评分体外培养1-2 mo很少发生自发性转化,适用于临床干细胞移植治疗。研究BMSCs对肝脏的修复作用至少应该包括两个方面:即对受损肝脏功能的恢复以及促进受损肝脏的再生。Fürst *et al*<sup>[37]</sup>证实自体BMSCs移植可促进受损肝脏再生。他们将CD133(+)的BMSCs移植到实施了扩大右肝切除手术的肝脏恶性肿瘤患者的残肝内,CT测量移植后残肝体积及平均每日肝脏体积增长数均显著高于未予细胞移植的对照组。Terai *et al*<sup>[38]</sup>报道将9名肝硬化患者的自体BMSCs通过外周静脉灌注到患者体内,移植24 wk后观察发现所有患者血清白蛋白、总蛋白及Child-Pugh评分均有显著提高( $P<0.05$ )。Levicar *et al*<sup>[2]</sup>将CD34(+)BMSCs通过门静脉及肝动脉移植到5名慢性肝病患者肝脏内,移植细胞数量范围为 $1\times 10^6$ 至 $2\times 10^8$ 之间,连续随访12-18 mo显示所有接受细胞移植的患者均较好的耐受了移植治疗,未见严重的并发症和副反应发生。BMSCs除可用于治疗肝损伤性疾病外,还可用于肝脏代谢性疾病以及基因遗传缺陷病的治疗。Wilson's病是肝脏铜代谢异常的疾病,已有应用BMSCs移植治疗该病的报道。Allen *et al*<sup>[39]</sup>将同窝出生的小鼠BMSCs移植到46只小鼠Wilson's模型(通过亚致死性照射后给予铜负荷饮食制备),观察发现11只模型鼠肝内显示有肝脏基因型的再生,肝脏铜水平显著下降,铜负荷逆转水平与常规同系肝细胞移植相似。Lagasse *et al*<sup>[15]</sup>证实BMSCs诱导产生的肝细胞可能重新构建延胡索酸乙酰乙酸酶(FAH)缺陷小鼠的肝脏,他们将骨髓移植到FAH-缺乏的致死性遗传性I型高酪氨酸血症的小鼠模型中,观察发现骨髓衍生的细胞重建了大部分(达30%-50%)肝组织,同时发现大量供体衍生的能够表达FAH酶的形态正常的肝细胞,生化机能鉴定显示骨髓衍生的细胞几乎完全修复了正常肝细胞的功能。另外,最近研究显示粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor G-CSF)可有效地促进受损肝脏修复,利用G-CSF动员自体BMSCs治疗终末期肝病也代表

了未来干细胞治疗的研究方向。此法较BMSCs移植具有显著的优势,是真正意义上的无创治疗。Gaia *et al*<sup>[40]</sup>为评估G-CSF动员自体BMSCs治疗终末期肝硬化的可行性和安全性进行了一项研究。他们对8名严重肝硬化的患者(Child-Pugh评分B-C,脾脏直径 $<170$  mm)给予G-CSF( $5\text{ }\mu\text{g/kg}$ , 3次/d,连续3 d)动员BMSCs,结果发现所有患者的CD34<sup>+</sup>细胞和骨髓CFU-GM前体细胞均增加,脾脏直径较前显著逆转。所有患者均可对G-CSF耐受,没有不良反应发生。

上述研究成果为我们揭示了BMSCs治疗终末期肝病的美好蓝图,但上述报道是否真正意义上促进细胞移植大规模应用于临床却并未得到广泛认同。与上述研究的结果相反,尚有报道显示移植的BMSCs并不能改善受损肝脏功能及提高生存率,甚至可能参与受体肝纤维化的形成。Dahlke *et al*<sup>[41]</sup>将BMSCs移植到CCl<sub>4</sub>联合惹草碱诱导的啮齿动物肝损伤模型,结果显示移植后并未改善动物的生存率。组织学检查发现浸润到肝脏的植入细胞大部分是粒细胞系的,仅代表肝坏死的炎症反应。Cantz *et al*<sup>[42]</sup>将BMSCs移植到肝损伤鼠的脾脏内,检测发现骨髓衍生的细胞对肝损伤再生作用很少或几乎没有作用。Kisseleva *et al*<sup>[43]</sup>的研究结果除提示骨髓干细胞移植除不能改善受损鼠肝功能外,尚有潜在地促进肝纤维化形成的作用。由此可见BMSCs对肝病潜在的治疗作用必须谨慎的评估。

## 6 BMSCs与肝癌的关系

干细胞和肿瘤细胞具有相同的特性即可以无限增殖,这同时也引发一个疑问,那就是肝脏干细胞是否具有癌变的潜能。许多肝癌的动物模型均证实肿瘤起源于卵圆细胞,人们不禁提出了假说,认为这些细胞对人肝脏肿瘤的发生具有潜在的促进作用。最近,研究者已经证实一些癌瘤干细胞也是由成人干细胞分化而来,如胃癌可以直接起源于BMSCs。肝癌的起源是否也与成体干细胞有关尚不明确。当前通过形态学和表型已在肝硬化的不良结节和肝腺瘤内鉴定出肝脏干细胞,加之肝细胞癌和胆管细胞癌都存在过渡型以及结合型的肝-胆管细胞癌,若假设这些类型的癌均起源于肝脏干细胞则更容易解释<sup>[36]</sup>。有学者提出了新的肝癌遗传学模型,阐述了干细胞与肝癌形成的关系。其观点为:慢性肝损伤可以动员骨髓干细胞到肝脏,进而分化为卵圆细胞和干细胞促进肝脏再生。持续再生导

致过度增生, 转化突变率也随之增加, 细胞外基质重塑触发了抑制肝脏特异性转录因子转活潜能的级联反应, 干细胞的成熟受阻, 最终导致肝癌发生<sup>[44]</sup>.

最近亦有研究显示肝脏肿瘤细胞即为成熟肝细胞与同时具有胆管细胞及肝细胞表型的未分化细胞融合而成. Cerec *et al*<sup>[45]</sup>研究发现肝脏干细胞具有极强的可塑性, 其在转分化为肝细胞和增殖的同时具有分化为肿瘤细胞的潜能. Chiba *et al*<sup>[46]</sup>研究发现肝脏干细胞的自我更新失调可能是肝癌发生的早期改变. 他们将Bmi1及 $\beta$ -连环蛋白突变体基因转入肝脏干细胞以促进干细胞自我更新, 结果导致单个干细胞显著扩增出子代同源细胞, 进而形成同时具有肝细胞癌及胆管细胞癌特征的肿瘤.

## 7 BMSCs肝内移植方式的选择

BMSCs移植到肝脏可供选择的移植途径较多, 肝脏、脾脏及腹膜腔均是可供选择的移植部位, 且已被报道用于动物模型实验. 影像设备引导下腹膜腔穿刺移植创伤较小且可以移植较大的数量, 但其缺点是肝细胞在腹膜腔内较难存活. 门静脉内移植BMSCs应用较多, 此途径移植也更符合肝脏组织学及生理学特点, 与其他途径相比, 细胞更易进入肝窦. 动物模型已经证实门静脉输注BMSCs在肝脏内有更高的首次通过率<sup>[47]</sup>. 此外, 门静脉是肝脏的营养静脉, 门静脉血中的营养成分对植入的细胞有益, 加之肝脏本身的微环境也可调节植入细胞的分化. 门静脉移植大致可分为直接和间接两种途径, 直接途径为经皮肝内门静脉穿刺套管插入术, 间接途径是剖腹肠系膜静脉插入套管或借助腹腔镜<sup>[48]</sup>门静脉插管移植. 间接门静脉途径细胞移植需通过开腹将导管插至肠系膜下静脉或脐静脉, 创伤较大, 应用较少. 经皮肝内门静脉穿刺套管插入术属于介入放射学范畴, 技术成熟且创伤相对较小, 已有较多报道应用于肝内胰岛细胞移植<sup>[49]</sup>. 具体方法是在超声、CT或透视引导下经皮穿刺到肝内门静脉, 造影明确后引入套管, 同时缓慢输注移植细胞, 注入细胞期间密切监测门静脉压力, 注完后给予肝素抗凝以防止门静脉血栓形成. 术后予以凝血酶饱和的明胶海绵栓塞针道. Goss *et al*<sup>[49]</sup>通过上述途径移植胰岛细胞, 术后随访未见门静脉栓塞及内出血等并发症. Weimar *et al*<sup>[50]</sup>也报道了44例经皮穿刺肝内门静脉插管移植胰岛细胞的病例,

其中39例1次穿刺成功, 4例穿刺2次, 1例穿刺4次成功. 所有病例仅1例出现包膜下血肿.

肝动脉介入插管途径也可将细胞直接输注至肝脏, 但从肝脏的组织超微结构来看, 并不利于细胞向肝窦内迁移. 但其优点是符合介入移植的动脉插管途径, 临床上也见经肝动脉细胞移植的报道<sup>[51-53]</sup>.

脾脏被认为是肝细胞移植的理想部位, 植入脾内的肝细胞可长期存活、增殖并保持肝细胞的形态和功能. 脾内移植后50%-60%的植入肝细胞位于肝脏内, 15%仍在脾内, 5%入肺. 但其缺点同样是移植的细胞数量受限, 脾脏仅能容纳不超过3%的正常肝组织, 且可引起门静脉高压症及右心房压力升高等并发症. 目前, 脾脏内肝细胞移植亦有较多报道<sup>[53-56]</sup>.

## 8 BMSCs肝内移植数量

门静脉内植入细胞的数量也是值得探讨的问题, 如果细胞移植数量过少, 则达不到治疗效果. 但若经门静脉输注过多的细胞即可导致死性的门静脉栓塞及肝坏死. 移植细胞的数量应参照人体肝细胞总数, 通常的计算方法是每千克体重大概是 $4 \times 10^9$ 个肝细胞. 人体大约需要 $2.5 \times 10^{10}$ 个肝细胞才能维持人体正常肝脏功能. 由于肝功能衰竭患者体内尚有部分残存的肝细胞, 故移植相当于3%-5%肝细胞总量( $3-5 \times 10^9$ 个肝细胞)即可起到较好的支持作用<sup>[2]</sup>. Levicar *et al*<sup>[2]</sup>将数量为 $1 \times 10^6$ 至 $2 \times 10^8$ 个CD34(+)BMSCs通过门静脉或肝动脉移植到5名慢性肝病患者肝脏内, 连续随访12-18 mo未见严重的并发症和副反应发生. Muraca *et al*<sup>[57]</sup>研究证实门静脉栓塞的发生率与植入的细胞数量呈正相关. 他们通过门静脉插管移植猪肝细胞, 以 $2.5 \times 10^8$ 个/min的速度注入, 发现当注入细胞数量达 $4 \times 10^8-2.4 \times 10^9$ 个时, 门静脉压也随之增加, 二者呈线形关系. 此时门静脉血流量逐渐降低, 与门静脉压呈反线性关系. 当门静脉压 $>40$  mmHg时门静脉血流量接近于零, 血小板降至原来的22%-58%. 肝段内及门静脉小分支内均见包含有肝细胞的血栓形成.

为降低门静脉栓塞等并发症的发生率, 应严格控制植入细胞的数量. 但究竟细胞数量控制在什么范围内才可避免并发症的发生尚无明确标准. 报道移植成功的病例移植的细胞数量也不尽一致. 王平 *et al*<sup>[58]</sup>将 $10^5$ 个BMSCs通过门静脉移植到正常大鼠肝脏内, 发现移植后4 wk仍见存活

### ■应用要点

本文较全面的总结性肝脏干细胞研究水平, 对骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病的实验及临床研究具有一定的参考价值.

## ■名词解释

骨髓干细胞: 研究最广泛的成体干细胞, 包括造血干细胞和间充质干细胞。骨髓干细胞位于骨髓腔内, 具有极强的可塑性, 分离培养的BMSCs能够在多次传代中保持未分化状态及稳定的表型。

的移植细胞, 且向肝实质内迁移。am Esch *et al*<sup>[59]</sup>通过门静脉插入5-F cobra导管, 将最大细胞数量达 $1.23 \times 10^7$ 个自体CD133<sup>+</sup> BMSCs输注到肝右段门静脉栓塞术后的患者肝脏内, 4 min注完。期间未见门静脉栓塞。Gordon *et al*<sup>[51]</sup>通过门静脉将最高达 $2 \times 10^8$ 个CD34<sup>+</sup> BMSCs移植到肝功能不全的患者肝脏内, 亦未见门静脉栓塞等并发症发生。已有报道显示门静脉内少量多次细胞移植可降低门静脉栓塞等的发生率。Rozga *et al*<sup>[60]</sup>通过实验研究发现, 与一次性大量细胞植入比较(一次性输注 $2 \times 10^7$ 个肝细胞), 门静脉内多次少量细胞移植(分6批植入, 每批 $5 \times 10^6$ 个肝细胞)可明显降低肝损害的发生率( $P < 0.05$ )。Dunn *et al*<sup>[61]</sup>也提出经多次脾内移植, 可减少了一次大量移植产生的并发症且增加了移植细胞的总量。

## 9 结论

BMSCs应用于临床前景广阔, 然而, 临床上成功的应用干细胞治疗肝脏疾病必须包括对患者进行严密的治疗风险预测, 严格的把握适应症以及建立长期的疗效观察。这一切都将决定治疗的利弊<sup>[62]</sup>。肝癌的起源是否与成体干细胞有关也尚不明确。尽管对BMSCs移植存在这些困难、疑问以及潜在的危险, 当前对BMSCs新的试验模式的研究仍在继续, 如移植时同时给予细胞因子和化学增殖素以利于细胞在肝内有效的定位及分化等<sup>[4,63]</sup>。相信随着成人肝脏干细胞研究的深入及上述问题的解决, 将使人们更好的了解肝脏内环境的稳态和再生的机制, 也必将开启细胞移植治疗肝脏疾病的大门。

## 10 参考文献

- 1 Tanaka K, Soto-Gutierrez A, Navarro-Alvarez N, Rivas-Carrillo JD, Jun HS, Kobayashi N. Functional hepatocyte culture and its application to cell therapies. *Cell Transplant* 2006; 15: 855-864
- 2 Levicar N, Pai M, Habib NA, Tait P, Jiao LR, Marley SB, Davis J, Dazzi F, Smadja C, Jensen SL, Nicholls JP, Apperley JF, Gordon MY. Long-term clinical results of autologous infusion of mobilized adult bone marrow derived CD34<sup>+</sup> cells in patients with chronic liver disease. *Cell Prolif* 2008; 41 Suppl 1: 115-125
- 3 Aurich I, Mueller LP, Aurich H, Luetzkendorf J, Tisljar K, Dollinger MM, Schormann W, Walldorf J, Hengstler JG, Fleig WE, Christ B. Functional integration of hepatocytes derived from human mesenchymal stem cells into mouse livers. *Gut* 2007; 56: 405-415
- 4 Yagi K, Kojima M, Oyagi S, Ikeda E, Hirose M, Isoda K, Kawase M, Kondoh M, Ohgushi H. [Application of mesenchymal stem cells to liver regenerative

medicine] *Yakugaku Zasshi* 2008; 128: 3-9

- 5 Yan L, Han Y, Wang J, Liu J, He Y, Wang H, Fan D. Peripheral blood monocytes from the decompensated liver cirrhosis could migrate into nude mouse liver with human hepatocyte-markers expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 371: 635-638
- 6 Avital I, Inderbitzin D, Aoki T, Tyan DB, Cohen AH, Ferrareso C, Rozga J, Arnaout WS, Demetriou AA. Isolation, characterization, and transplantation of bone marrow-derived hepatocyte stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 288: 156-164
- 7 Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, Jiang Y, Blackstad M, Lund T, Lenvik T, Johnson S, Hu WS, Verfaillie CM. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* 2002; 109: 1291-1302
- 8 Okumoto K, Saito T, Haga H, Hattori E, Ishii R, Karasawa T, Suzuki A, Misawa K, Sanjo M, Ito JI, Sugahara K, Saito K, Togashi H, Kawata S. Characteristics of rat bone marrow cells differentiated into a liver cell lineage and dynamics of the transplanted cells in the injured liver. *J Gastroenterol* 2006; 41: 62-69
- 9 Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS, Goff JP. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284: 1168-1170
- 10 Theise ND, Badve S, Saxena R, Henegariu O, Sell S, Crawford JM, Krause DS. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology* 2000; 31: 235-240
- 11 Oh SH, Witek RP, Bae SH, Zheng D, Jung Y, Piscaglia AC, Petersen BE. Bone marrow-derived hepatic oval cells differentiate into hepatocytes in 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy-induced liver regeneration. *Gastroenterology* 2007; 132: 1077-1087
- 12 Zhan Y, Wang Y, Wei L, Chen H, Cong X, Fei R, Gao Y, Liu F. Differentiation of hematopoietic stem cells into hepatocytes in liver fibrosis in rats. *Transplant Proc* 2006; 38: 3082-3085
- 13 Roskams T, Yang SQ, Koteish A, Durnez A, DeVos R, Huang X, Achten R, Verslype C, Diehl AM. Oxidative stress and oval cell accumulation in mice and humans with alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Pathol* 2003; 163: 1301-1311
- 14 Faris RA, Konkin T, Halpert G. Liver stem cells: a potential source of hepatocytes for the treatment of human liver disease. *Artif Organs* 2001; 25: 513-521
- 15 Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, Wang X, Finegold M, Weissman IL, Grompe M. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 2000; 6: 1229-1234
- 16 Hong H, Chen JZ, Zhou F, Xue L, Zhao GQ. Influence of serum from liver-damaged rats on differentiation tendency of bone marrow-derived stem cells. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2250-2253
- 17 Wagers AJ, Sherwood RL, Christensen JL, Weissman IL. Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science* 2002; 297: 2256-2259
- 18 Wulf GG, Luo KL, Jackson KA, Brenner MK, Goodell MA. Cells of the hepatic side population contribute to liver regeneration and can be replenished with bone marrow stem cells.



- Haematologica* 2003; 88: 368-378
- 19 Goodell MA, Rosenzweig M, Kim H, Marks DF, DeMaria M, Paradis G, Grupp SA, Sieff CA, Mulligan RC, Johnson RP. Dye efflux studies suggest that hematopoietic stem cells expressing low or undetectable levels of CD34 antigen exist in multiple species. *Nat Med* 1997; 3: 1337-1345
  - 20 Theise ND, Saxena R, Portmann BC, Thung SN, Yee H, Chiriboga L, Kumar A, Crawford JM. The canals of Hering and hepatic stem cells in humans. *Hepatology* 1999; 30: 1425-1433
  - 21 Alison MR, Poulson R, Jeffery R, Dhillon AP, Quaglia A, Jacob J, Novelli M, Prentice G, Williamson J, Wright NA. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* 2000; 406: 257
  - 22 Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, Illei PB, Morgan G, Teperman L, Henegariu O, Krause DS. Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 2000; 32: 11-16
  - 23 Newsome PN, Johannessen I, Boyle S, Dalakas E, McAulay KA, Samuel K, Rae F, Forrester L, Turner ML, Hayes PC, Harrison DJ, Bickmore WA, Plevris JN. Human cord blood-derived cells can differentiate into hepatocytes in the mouse liver with no evidence of cellular fusion. *Gastroenterology* 2003; 124: 1891-1900
  - 24 Ishikawa F, Drake CJ, Yang S, Fleming P, Minamiguchi H, Visconti RP, Crosby CV, Argraves WS, Harada M, Key LL Jr, Livingston AG, Wingard JR, Ogawa M. Transplanted human cord blood cells give rise to hepatocytes in engrafted mice. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 996: 174-185
  - 25 Kakinuma S, Tanaka Y, Chinzei R, Watanabe M, Shimizu-Saito K, Hara Y, Teramoto K, Arai S, Sato C, Takase K, Yasumizu T, Teraoka H. Human umbilical cord blood as a source of transplantable hepatic progenitor cells. *Stem Cells* 2003; 21: 217-227
  - 26 Wang X, Ge S, McNamara G, Hao QL, Crooks GM, Nolta JA. Albumin-expressing hepatocyte-like cells develop in the livers of immune-deficient mice that received transplants of highly purified human hematopoietic stem cells. *Blood* 2003; 101: 4201-4208
  - 27 Kashofer K, Bonnet D. Gene therapy progress and prospects: stem cell plasticity. *Gene Ther* 2005; 12: 1229-1234
  - 28 Terada N, Hamazaki T, Oka M, Hoki M, Mastalerz DM, Nakano Y, Meyer EM, Morel L, Petersen BE, Scott EW. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* 2002; 416: 542-545
  - 29 Vassilopoulos G, Wang PR, Russell DW. Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature* 2003; 422: 901-904
  - 30 Wang X, Willenbring H, Akkari Y, Torimaru Y, Foster M, Al-Dhalimy M, Lagasse E, Finegold M, Olson S, Grompe M. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature* 2003; 422: 897-901
  - 31 Dahlke MH, Loi R, Warren A, Holz L, Popp FC, Weiss DJ, Piso P, Bowen DG, McCaughan GW, Schlitt HJ, Bertolino P. Immune-mediated hepatitis drives low-level fusion between hepatocytes and adult bone marrow cells. *J Hepatol* 2006; 44: 334-341
  - 32 Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41-49
  - 33 Higashiyama R, Inagaki Y, Hong YY, Kushida M, Nakao S, Niioka M, Watanabe T, Okano H, Matsuzaki Y, Shiota G, Okazaki I. Bone marrow-derived cells express matrix metalloproteinases and contribute to regression of liver fibrosis in mice. *Hepatology* 2007; 45: 213-222
  - 34 Wu LM, Li LD, Liu H, Ning KY, Li YK. Effects of Guiyuanfang and autologous transplantation of bone marrow stem cells on rats with liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1155-1160
  - 35 Abdel Aziz MT, Atta HM, Mahfouz S, Fouad HH, Roshdy NK, Ahmed HH, Rashed LA, Sabry D, Hassouna AA, Hasan NM. Therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on experimental liver fibrosis. *Clin Biochem* 2007; 40: 893-899
  - 36 Sawada R, Ito T, Tsuchiya T. Changes in expression of genes related to cell proliferation in human mesenchymal stem cells during in vitro culture in comparison with cancer cells. *J Artif Organs* 2006; 9: 179-184
  - 37 Fürst G, Schulte am Esch J, Poll LW, Hosch SB, Fritz LB, Klein M, Godehardt E, Krieg A, Wecker B, Stoldt V, Stockschröder M, Eisenberger CF, Mödder U, Knoefel WT. Portal vein embolization and autologous CD133+ bone marrow stem cells for liver regeneration: initial experience. *Radiology* 2007; 243: 171-179
  - 38 Terai S, Ishikawa T, Omori K, Aoyama K, Marumoto Y, Urata Y, Yokoyama Y, Uchida K, Yamasaki T, Fujii Y, Okita K, Sakaida I. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy. *Stem Cells* 2006; 24: 2292-2298
  - 39 Allen KJ, Cheah DM, Lee XL, Pettigrew-Buck NE, Vadolas J, Mercer JF, Ioannou PA, Williamson R. The potential of bone marrow stem cells to correct liver dysfunction in a mouse model of Wilson's disease. *Cell Transplant* 2004; 13: 765-773
  - 40 Gaia S, Smedile A, Omedè P, Olivero A, Sanavio F, Balzola F, Ottobrelli A, Abate ML, Marzano A, Rizzetto M, Tarella C. Feasibility and safety of G-CSF administration to induce bone marrow-derived cells mobilization in patients with end stage liver disease. *J Hepatol* 2006; 45: 13-19
  - 41 Dahlke MH, Popp FC, Bahlmann FH, Aselmann H, Jäger MD, Neipp M, Piso P, Klempnauer J, Schlitt HJ. Liver regeneration in a retrorsine/CCl4-induced acute liver failure model: do bone marrow-derived cells contribute? *J Hepatol* 2003; 39: 365-373
  - 42 Cantz T, Sharma AD, Jochheim-Richter A, Arseniev L, Klein C, Manns MP, Ott M. Reevaluation of bone marrow-derived cells as a source for hepatocyte regeneration. *Cell Transplant* 2004; 13: 659-666
  - 43 Kisseleva T, Uchinami H, Feirt N, Quintana-Bustamante O, Segovia JC, Schwabe RF, Brenner DA. Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis. *J Hepatol* 2006; 45: 429-438
  - 44 Wu XZ, Yu XH. Bone marrow cells: the source of hepatocellular carcinoma? *Med Hypotheses* 2007; 69: 36-42
  - 45 Cerec V, Glaise D, Garnier D, Morosan S, Turlin B, Drenou B, Gripon P, Kremsdorf D, Guguen-Guillouzo C, Corlu A. Transdifferentiation of hepatocyte-like cells from the human hepatoma HepaRG cell line through bipotent progenitor.

#### 同行评价

本文内容全面, 参考文献引用较新, 是一篇较好的综述。

- Hepatology* 2007; 45: 957-967
- 46 Chiba T, Zheng YW, Kita K, Yokosuka O, Saisho H, Onodera M, Miyoshi H, Nakano M, Zen Y, Nakanuma Y, Nakauchi H, Iwama A, Taniguchi H. Enhanced self-renewal capability in hepatic stem/progenitor cells drives cancer initiation. *Gastroenterology* 2007; 133: 937-950
  - 47 Fan TX, Hisha H, Jin TN, Yu CZ, Lian ZX, Guo SB, Cui YZ, Feng B, Yang GX, Li Q, Ikehara S. Successful allogeneic bone marrow transplantation (BMT) by injection of bone marrow cells via portal vein: stromal cells as BMT-facilitating cells. *Stem Cells* 2001; 19: 144-150
  - 48 Movahedi B, Keymeulen B, Lauwers MH, Goes E, Cools N, Delvaux G. Laparoscopic approach for human islet transplantation into a defined liver segment in type-1 diabetic patients. *Transpl Int* 2003; 16: 186-190
  - 49 Goss JA, Soltes G, Goodpastor SE, Barth M, Lam R, Brunnicardi FC, Froud T, Alejandro R, Ricordi C. Pancreatic islet transplantation: the radiographic approach. *Transplantation* 2003; 76: 199-203
  - 50 Weimar B, Rauber K, Brendel MD, Bretzel RG, Rau WS. Percutaneous transhepatic catheterization of the portal vein: A combined CT- and fluoroscopy-guided technique. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1999; 22: 342-344
  - 51 Gordon MY, Levicar N, Pai M, Bachellier P, Dimarakis I, Al-Allaf F, M'Hamdi H, Thalji T, Welsh JP, Marley SB, Davies J, Dazzi F, Marelli-Berg F, Tait P, Playford R, Jiao L, Jensen S, Nicholls JP, Ayav A, Nohandani M, Farzaneh F, Gaken J, Dodge R, Alison M, Apperley JF, Lechler R, Habib NA. Characterization and clinical application of human CD34+ stem/progenitor cell populations mobilized into the blood by granulocyte colony-stimulating factor. *Stem Cells* 2006; 24: 1822-1830
  - 52 张强, 李京雨, 徐力扬, 刘明, 姚鹏, 王帅. 经肝动脉骨髓干细胞移植治疗肝硬化的初步临床应用. *中国介入影像与治疗学* 2005; 2: 261-263
  - 53 姚鹏, 胡大荣, 王帅, 胡学玲, 闻炜, 周一鸣, 龚丽娟. 自体骨髓干细胞移植治疗慢性重症肝病临床研究. *透析与人工器官* 2006; 17: 18-21
  - 54 Arkadopoulos N, Lilja H, Suh KS, Demetriou AA, Rozga J. Intrasplenic transplantation of allogeneic hepatocytes prolongs survival in anhepatic rats. *Hepatology* 1998; 28: 1365-1370
  - 55 蔡云峰, 陈积圣, 闵军, 魏菁, 何劲松, 莫隽全. 骨髓源性肝干细胞定向分化及脾内移植研究. *中华实验外科杂志* 2004; 21: 551-554
  - 56 Ju S, Teng GJ, Lu H, Zhang Y, Zhang A, Chen F, Ni Y. In vivo MR tracking of mesenchymal stem cells in rat liver after intrasplenic transplantation. *Radiology* 2007; 245: 206-215
  - 57 Muraca M, Neri D, Parenti A, Feltracco P, Granato A, Vilei MT, Ferraresso C, Ballarin R, Zanusso GE, Giron G, Rozga J, Gerunda G. Intraportal hepatocyte transplantation in the pig: hemodynamic and histopathological study. *Transplantation* 2002; 73: 890-896
  - 58 王平, 王建华, 颜志平, 胡美玉, 王艳红, 李文涛, 林根来. 大鼠骨髓基质细胞分离培养和经门静脉途径移植的初步研究. *中华放射学杂志* 2004; 38: 129-132
  - 59 am Esch JS 2nd, Knoefel WT, Klein M, Ghodsizad A, Fuerst G, Poll LW, Piechaczek C, Burchardt ER, Feifel N, Stoldt V, Stockschröder M, Stoecklein N, Tustas RY, Eisenberger CF, Peiper M, Häussinger D, Hosch SB. Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: a novel concept to support hepatic regeneration. *Stem Cells* 2005; 23: 463-470
  - 60 Rozga J, Holzman M, Moscioni AD, Fujioka H, Morsiani E, Demetriou AA. Repeated intraportal hepatocyte transplantation in analbuminemic rats. *Cell Transplant* 1995; 4: 237-243
  - 61 Dunn TB, Kumins NH, Raofi V, Holman DM, Mihalov M, Blanchard J, Law WR, Rastellini C, Benedetti E. Multiple intrasplenic hepatocyte transplantations in the dalmatian dog. *Surgery* 2000; 127: 193-199
  - 62 Fändrich F, Ruhnke M. [Stem cells and liver replacement] *Med Klin (Munich)* 2003; 98 Suppl 2: 18-22
  - 63 Marumoto Y, Terai S, Urata Y, Matsumoto T, Mizunaga Y, Yamamoto N, Jin H, Fujisawa K, Murata T, Shinoda K, Nishina H, Sakaida I. Continuous high expression of XBP1 and GRP78 is important for the survival of bone marrow cells in CCl4-treated cirrhotic liver. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 367: 546-552

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

### 世界华人消化杂志网络版的发表前链接

**本刊讯** 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程. (常务副总编辑: 张海宁 2008-09-08)