

肝星状细胞在肝脏疾病中的作用

张磊 李玉民

【摘要】 肝星状细胞(HSC)是肝脏内重要的非实质细胞之一,可分泌、释放多种胶原纤维和细胞骨架蛋白参与肝脏疾病的病理生理过程。正常状态下,HSC通过调节细胞外基质蛋白的合成和降解维持肝脏正常的组织结构;肝脏损伤时,HSC被激活,活化的HSC导致细胞外基质的增加是肝纤维化形成并最终导致肝硬化、肝衰竭的主要原因。因此,深入研究HSC在肝脏疾病发生与发展中的作用和机制,并研究与HSC相关的治疗策略,对于提高患者生存率具有一定意义。

【关键词】 肝肿瘤; 肝纤维化; 肝星状细胞

Effects of hepatic stellate cells in hepatic diseases Zhang Lei, Li Yumin. Second Clinical Medical College, Lanzhou University, Key Laboratory of Digestive System Tumors, Lanzhou 730030, China

Corresponding author: Li Yumin, Email: liym@lzu.edu.cn

【Abstract】 Hepatic satellite cell (HSC) is a kind of nonparenchymal cells in the liver, which releases various collagenous fibers and cytoskeletal proteins, playing an important role in the pathophysiological changes of the liver. In normal, HSCs maintain normal tissue architecture via regulating the synthesis and degradation of extracellular matrix (ECM) proteins. During liver injury, HSCs were activated. Activated HSCs are the main cells that lead to the accumulation of extracellular matrix, which is the main reason of hepatic fibrosis, cirrhosis and liver failure. Therefore, lucubrating the role and mechanism of HSC in the progress of hepatic disease and investigating the HSC-related therapeutic strategies have practical significances for the prevention and treatment of liver injury and raise of patients' survival rates in clinical practice.

【Key words】 Liver neoplasms; Hepatic fibrosis; Hepatic satellite cells

肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)是肝脏内主要的间质细胞之一,占肝脏固有细胞总数的10%左右。HSC是肝细胞外基质的主要来源,对维

持肝内微环境的动态平衡有重要作用^[1]。自19世纪德国科学家Kupffer首次描述HSC之后,各国学者相继研究发现HSC参与诸多肝脏疾病的病理生理过程。围绕HSC激活机制来阐明肝脏疾病的病理生理过程有重要意义。本文将目前国内外有关HSC在正常和疾病状态下肝脏中的作用机制进行综述,以期为肝脏疾病的防治提供新的思路。

1 HSC的研究概况

1.1 HSC的探索历史

关于HSC的研究已经有100多年的历史。Kupffer于1876年首次发现肝脏中有一种呈星状形态的细胞,并将其命名为星状细胞。1882年Rothe证实了Kupffer的发现。1951年日本学者Ito应用光学显微镜发现人的肝窦周围有一种富含脂质小滴的细胞,并将之命名为Ito细胞或贮脂细胞。1966年, Bronfenmajer证实了Ito细胞的发现,重新将其命名为脂细胞。直到1971年,Wake采用电镜结合氯化金染色法和苏丹红染色法发现Ito细胞和星状细胞属同一类型,并指出这种细胞富含维生素A和脂质小滴。随着生命科学技术的不断发展,对于HSC的研究逐步展开。1996年,《Hepatology》杂志发表了98位著名国际肝病学家的建议,对该类细胞仍然以HSC命名。

1.2 HSC的活化及细胞系

位于窦周间隙的HSC通过分枝状突起与肝细胞密切接触。HSC正常生理状态下处于静止状态,胞质中含有丰富的维生素A,不表达 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA),胶原合成能力和增殖活性较弱^[1-2]。在不同损伤因素作用下,HSC被激活转化为肌成纤维细胞。HSC的活化包括启动阶段和持续阶段^[3]。启动阶段包含基因表达以及细胞表型早期改变的整个过程,可使HSC对其他细胞因子和外界刺激做出相应的反应,而持续阶段则是这些不同刺激因素所产生的维持活化表型和促进纤维化的效应。

1.2.1 HSC活化的启动阶段: HSC最早的变化可能是由邻近细胞(包括内皮细胞、库普弗细胞、肝细

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2014.01.021

基金项目: 国家自然科学基金(31270532); 甘肃省重点实验室建设计划项目(085RTSA002)

作者单位: 730030 兰州大学第二临床医学院 甘肃省消化系统肿瘤重点实验室

通信作者: 李玉民, Email: liym@lzu.edu.cn

胞)旁分泌刺激的结果。早期内皮细胞损伤刺激细胞纤连蛋白产生,后者再激活 HSC^[4]。库普弗细胞浸润在 HSC 的激活过程中也发挥了重要作用,它能够通过细胞因子的作用和活性氧中间产物/脂质过氧化物刺激基质合成、细胞增殖和 HSC 释放维生素 A 样物质。PLT 是生长因子最为有效的来源并且存在于损伤的肝组织内。重要的 PLT 介质包括 PLT 衍生因子、TGF- β 等。

1.2.2 HSC 活化的持续阶段:在 HSC 活化的持续阶段,其细胞生物学行为有多种不同的变化,包括细胞增殖、收缩、纤维形成、基质降解、化学趋向性、维生素 A 消失和 WBC 化学吸引性等:(1)增殖性。血小板衍生因子是强有力的 HSC 有丝分裂原,其受体在 HSC 激活的早期被诱导,可增加对该有丝分裂原的反应性,导致 HSC 的增殖能力有所提高^[5]。(2)收缩性。HSC 的收缩在肝纤维化过程中可能是早期和晚期门静脉阻力增加的最主要决定因素。(3)化学趋向性。HSC 通过诱导单核细胞和多形核 WBC 的浸润增强炎症反应。(4)维生素 A 消失。HSC 被激活的同时丢失了具有特征性的核周围维生素 A 小滴,变得更具有纤维母细胞的外观特征。其他如成纤维性、基质降解也发生相应改变。HSC 激活后不同程度的变化直接或者间接地增加了细胞外基质的不断积累,能够产生基质的细胞数目显著增加,而且单个细胞基质的产生量也明显增加。HSC 通过释放不同的细胞因子显著增强了成纤维组织的反应,而基质蛋白酶加速具有瘢痕特征的基质取代正常基质。这一系列的变化导致患者的纤维化病程加速。

1.3 HSC 系的建立

国内外众多学者相继开展 HSC 的基础研究工作,其中多采用体外实验的方法,在模拟体内生理环境等特定条件下进行 HSC 系培养。而这取决于不同遗传背景、生物学表型 HSC 系的成功建立以及细胞培养技术的成功应用。HSC 系的建立为体外研究 HSC 生物学特性,指导临床诊断和治疗实践提供了有形的载体。自 1911 年 Carrel 创造性地开展恶性肿瘤细胞培养研究之后,细胞系建立方法层出不穷。如前文所述,HSC 可相对分为静止和激活两种状态,静止状态的 HSC 系无法连续传代,而激活状态的 HSC 系可以连续传代培养。这使得不同研究机构在开展肝纤维化研究的过程中,需提纯分离建立新的静止状态的 HSC 系。

2 HSC 在正常肝脏中的作用

Passino 等^[6]和 Chan 等^[7]的研究结果表明:HSC 在胚胎时期肝脏的分化和成熟阶段发挥重要作用,HSC 的发育不良会导致肝实质细胞的发育障碍。作为肝脏重要的间质细胞之一,HSC 在肝纤维化和肝脏再生过程中扮演重要的角色^[8]。HSC 可能通过以下途径参与肝脏再生:(1)直接分化为肝细胞。HSC 具有多向分化潜能,能够分化成肝细胞和胆管上皮细胞,但其分化能力非常有限^[9]。(2)支持肝干细胞分化为肝细胞^[2,10-11]。HSC 在类维生素 A 贮存和转运方面扮演重要角色,正常人体肝脏中 80%~90% 的脂肪存储在 HSC 内^[12-13]。已发现 HSC 表达部分类维生素结合蛋白,包括视黄醇结合蛋白、视黄酸结合蛋白和乙酰辅酶 A 等。此外,HSC 具有分泌功能,可分泌脂蛋白、生长因子以及部分细胞因子参与肝脏病理生理过程。

肝脏独特的血供使其血管系统具有高容量和低灌注压的特点。肝窦作为肝脏的毛细血管床成为肝内血流的主要阻力来源,而从 HSC 的形态特征来看,无论其收缩或舒张,均与肝窦内血流调节密切相关^[14]。1991 年日本学者发现 HSC 存在内皮素受体,并可由该受体介导引起收缩。内皮素是刺激 HSC 收缩的主要因子,其受体在静止的以及被激活的 HSC 中均有表达,但其受体亚单位的变化较大^[15]。内皮素作用于 HSC 收缩,有赖于细胞内 Ca^{2+} 浓度上升^[16]。而心房肽则可作用于内皮素,抑制胞质内 Ca^{2+} 浓度增加,从而可抑制 HSC 收缩。

活化的 HSC 还具有各种免疫细胞的特征,可表达多种免疫相关分子并分泌具有不同免疫调节功能的细胞因子,能够直接参与肝脏局部的免疫调控。HSC 可作为抗原呈递细胞直接参与免疫反应,激活 T 淋巴细胞并促进其增殖。肝纤维化时,活化的 HSC 可分泌多种细胞因子如 TGF- β 1、IL-10、IL-6 等,这些细胞因子能够以不同的方式参与免疫反应的调节。HSC 免疫学特性的发现对于进一步阐明肝脏疾病的发病机制具有重要意义,也为临床上肝病的免疫治疗提供了更确凿的理论基础。

3 HSC 在肝脏疾病中的作用

如前文所述,在诸多损伤因素作用下,HSC 由富含类维生素 A 脂滴的静止状态转移分化为富含粗面内质网和高尔基体的激活状态。激活后的 HSC 获得不同于静止状态的生物特性:表达 α -SMA、波形蛋白和结蛋白等;HSC 收缩性增强;细胞外基质分泌

增加;分泌趋化因子和细胞因子;三甲氧苄氨嘧啶合成和分泌增加;HSC 增殖能力增加等。这些特性的改变在损伤后肝脏疾病的转归方面有重要影响。

3.1 HSC 在肝纤维化中的作用

HSC 活化可作为肝纤维化的中心事件。因为 HSC 是细胞外基质的主要来源,所以围绕 HSC 激活机制对肝纤维化的病理生理过程进行阐述具有重要意义。HSC 释放的细胞因子明显增强炎症反应性和成纤维组织反应性。被激活的 HSC 造成肝纤维化的最直接方式是增加基质产生,而基质蛋白酶又可以加速正常基质被具有损伤瘢痕特征的基质取代。HSC 内 I 型胶原基因在肝脏损伤中起着调节作用。对 I 型胶原产生刺激效果最强的是 TGF- β , 后者通过 H₂O₂ 和 c/增强子结合蛋白- β 依赖的机制刺激 HSC 内胶原的产生^[17-18]。TGF- β 下游信号包括 SMADs 的双功能分子家族,在纤维化发生的下游信号传导过程中,许多细胞内和细胞外的信号都集中于 SMADs,从而进行微调和进一步增强 TGF- β 的作用^[19]。能刺激体外培养的活化 HSC 产生 I 型胶原的其他因子还包括维生素 A、脂质过氧化物、IL-1 β 、TNF 和乙醛,但其效力均不如 TGF- β 。脂质过氧化物是细胞外基质产生的一个重要的刺激因子^[20]。当脂质过氧化物被激活时,其效果因 HSC 的抗氧化作用的丧失而得到增强,提示抗氧化剂的应用可作为治疗肝纤维化的新靶点^[21]。

肝纤维化是机体的一个创伤修复反应,损伤区域被大量的细胞外基质或者瘢痕基质所包裹,而被激活的 HSC 是肝脏瘢痕最关键的细胞来源。不同损伤因素导致的肝脏瘢痕成分相似,对肝硬化患者而言,导致肝衰竭的通常是瘢痕形成而不是损伤,这一理解有助于包括肝脏在内的多种器官纤维化疾病的新疗法的出现。只有进一步认识肝纤维化发生的最根本机制,才会使有效的抗纤维化治疗成为现实。HSC 的激活为抗纤维化治疗提供了潜在的靶点,目前可以通过直接下调 HSC 活性,中和 HSC 增殖能力、纤维形成能力、收缩性和促炎性反应,刺激 HSC 凋亡等途径治疗肝纤维化。

3.2 HSC 在肝脏肿瘤中的作用

早在 1889 年, Paget 提出的“种子与土壤”假说为肿瘤微环境概念的提出奠定了基础。作为“种子与土壤”假说的扩展, Domingo 等^[22] 准确地预测到作为“种子”的肿瘤细胞如果能够定居于适合其生长的“土壤”,即远端组织器官,肿瘤细胞必须与周围的影响因子协同作用。肝血窦周间隙作为“土

壤”为肿瘤的发生、发展提供合适的微环境。HSC 可以被肿瘤细胞诱导,在其周围产生大量的生长因子、细胞趋化因子,有利于肿瘤细胞的增殖和侵袭^[23]。Taura 等^[24] 证实:当 HSC 分泌的血管生成素 I 被激活后,可促进肿瘤组织的血管生成,增加肿瘤的血供。van Zijl 等^[25] 的研究结果表明:肝脏肌成纤维细胞可通过血小板源性生长因子通路和 TGF- β 通路介导的机制促进肝细胞癌的生长和转移。

肝脏因其独特的血流动力学特点成为机体众多肿瘤细胞转移的对象。HSC 可以分化为具有很强迁移能力的成纤维肌细胞,为肿瘤细胞的生长提供所需的微环境。激活后的 HSC 可以增强肿瘤细胞的侵袭转移能力。Amann 等^[26] 的研究结果表明:体外共培养 HSC 与肝肿瘤细胞可增加肿瘤细胞的侵袭和增殖能力;在三维球体共培养体系中, HSC 可显著降低肿瘤组织中心性坏死的程度。将 HSC 与肿瘤细胞共同植入到小鼠皮下,可观察到有丰富血供的肿瘤组织的形成^[27]。此外, Ju 等^[28] 通过对 130 例原发性肝癌患者的研究发现: HSC 可作为独立的预后因素,而且激活的 HSC 与肿瘤早期的高复发率相关。

3.3 HSC 在门静脉高压症中的作用

HSC 在门静脉高压症发生中的作用是近年来备受关注的热点问题。收缩性是 HSC 众多生物功能之一,其在肝纤维化过程中可能是早期和晚期门静脉阻力增加的最主要决定因素:被激活的 HSC 由于使硬化的肝脏收缩以及使肝窦狭窄而阻碍门静脉血流的通畅。典型的终末期纤维化的胶原区含有大量的活化的 HSC^[29]。当 HSC 收缩时,其细胞骨架蛋白 α -SMA 表达增加。若平滑肌肌动蛋白对收缩是必需的话,使其失活则是治疗门静脉高压症的一个靶点。内皮素-1 是目前已知的收缩血管作用最强的物质^[30]。在肝硬化个体的组织和血浆中,内皮素-1 水平显著升高^[31]。在促使 HSC 收缩的诸多因素中,内皮素-1 最为重要,其他物质如血管紧张素 II、去甲肾上腺素等效力均较内皮素-1 弱。内皮素-1 通过与 HSC 表面的内皮素受体结合,引起细胞内的 Ca²⁺ 释放,进而介导细胞的收缩。与此相反,局部产生的血管扩张物质可能对抗内皮素-1 的收缩效果^[31]。HSC 可产生内源性拮抗剂 NO。体内研究结果显示:NO 可作用于 HSC 从而介导肝血窦的松弛^[32]。门静脉的压力高低,取决于其阻力和血流量的多少。HSC 的收缩功能可以同时调节门静脉血流的阻力和流量。发生肝损伤时, HSC 收缩性能增

强,导致肝内血流阻力的增加,从而增高门静脉压力。另一方面,肝损伤伴随 NO 产生的减少,内皮素-1 与 NO 的比例失衡,肝血窦的收缩与扩张失去常态,加之机体的高动力循环进一步使门静脉血流量增加,门静脉高压因此发生。

4 小结

目前,关于 HSC 的特性以及其在肝细胞损伤修复以及肝脏局部免疫中作用还未充分了解,而这需要建立更适合的 HSC 系。虽然对 HSC 的某些具体作用机制尚存在争议和疑问,但也展示了众多有益的研究新方向。以 HSC 为靶点,研制针对激活后 HSC 的防治措施,不仅有益于肝脏疾病的基础研究,而且对于临床肝脏疾病的治疗具有一定意义。

参考文献

- [1] Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver[J]. *Physiol Rev*, 2008, 88(1):125-172.
- [2] Nagai H, Terada K, Watanabe G, et al. Differentiation of liver epithelial (stem-like) cells into hepatocytes induced by coculture with hepatic stellate cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 293(5):1420-1425.
- [3] Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(4):2247-2250.
- [4] Kasuya J, Sudo R, Mitaka T, et al. Hepatic stellate cell-mediated three-dimensional hepatocyte and endothelial cell triculture model[J]. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(3-4):361-370.
- [5] Bai Q, An J, Wu X, et al. HBV promotes the proliferation of hepatic stellate cells via the PDGF-B/PDGF- β signaling pathway in vitro[J]. *Int J Mol Med*, 2012, 30(6):1443-1450.
- [6] Passino MA, Adams RA, Sikorski SL, et al. Regulation of hepatic stellate cell differentiation by the neurotrophin receptor p75NTR[J]. *Science*, 2007, 315(5820):1853-1856.
- [7] Chan KM, Fu YH, Wu TJ, et al. Hepatic stellate cells promote the differentiation of embryonic stem cell-derived definitive endodermal cells into hepatic progenitor cells[J]. *Hepatology Res*, 2013, 43(6):648-657.
- [8] 刘昊,梁廷波. 肝星状细胞在肝再生中的作用[J]. *中华消化外科杂志*, 2011, 10(5):409-500.
- [9] Touboul T, Hannan NR, Corbinau S, et al. Generation of functional hepatocytes from human embryonic stem cells under chemically defined conditions that recapitulate liver development[J]. *Hepatology*, 2010, 51(5):1754-1765.
- [10] Uyama N, Shimahara Y, Kawada N, et al. Regulation of cultured rat hepatocyte proliferation by stellate cells[J]. *J Hepatol*, 2002, 36(5):590-599.
- [11] 石磊,贾雅丽,张晓梅,等. RNA 干扰技术体外抑制肝星状细胞表皮形态发生素表达及其对肝癌细胞迁移能力的影响[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2011, 38(4):361-369.
- [12] Nativ NI, Maguire TJ, Yarmush G, et al. Liver defatting: an alternative approach to enable steatotic liver transplantation[J]. *Am J Transplant*, 2012, 12(12):3176-3183.
- [13] Shirakami Y, Lee SA, Clugston RD, et al. Hepatic metabolism of retinoids and disease associations[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1821(1):124-136.
- [14] Reynaert H, Urbain D, Geerts A. Regulation of sinusoidal perfusion in portal hypertension[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2008, 291(6):693-698.
- [15] Takahimizu S, Kojima S, Nishizaki Y, et al. Effect of endothelin A receptor antagonist on hepatic hemodynamics in cirrhotic rats[J]. Implications for endothelin-1 in portal hypertension. *Tokai J Exp Clin Med*, 2011, 36(2):37-43.
- [16] Guo CY, Wu JY, Wu YB, et al. Effects of endothelin-1 on hepatic stellate cell proliferation, collagen synthesis and secretion, intracellular free calcium concentration[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(18):2697-2700.
- [17] Park SY, Lee JY, Tak WY, et al. Erythropoietin decreases carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis by inhibiting transforming growth factor-beta[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2012, 125(17):3098-3103.
- [18] Watanabe T, Tajima H, Hironori H, et al. Sodium valproate blocks the transforming growth factor (TGF)-beta1 autocrine loop and attenuates the TGF-beta1-induced collagen synthesis in a human hepatic stellate cell line[J]. *Int J Mol Med*, 2011, 28(6):919-925.
- [19] Pinzani M, Marra F. Cytokine receptors and signaling in hepatic stellate cells[J]. *Semin Liver Dis*, 2001, 21(3):397-416.
- [20] Svegliati Baroni G, D'Ambrosio L, Ferretti G, et al. Fibrogenic effect of oxidative stress on rat hepatic stellate cells[J]. *Hepatology* 1998, 27(3):720-726.
- [21] Whalen R, Rockey DC, Friedman SL, et al. Activation of rat hepatic stellate cells leads to loss of glutathione S-transferases and their enzymatic activity against products of oxidative stress[J]. *Hepatology* 1999, 30(4):927-933.
- [22] Domingo E, Laiho P, Ollikainen M, et al. BRAF screening as a low-cost effective strategy for simplifying HNPCC genetic testing[J]. *J Med Genet*, 2004, 41(9):664-668.
- [23] 孙斌,陈磊,刘振宇,等. 肿瘤相关肝星状细胞促进肝癌细胞上皮间质转化和迁移[J]. *第二军医大学学报*, 2013, 34(5):465-470.
- [24] Taura K, De Minicis S, Seki E, et al. Hepatic stellate cells secrete angiopoietin I that induces angiogenesis in liver fibrosis[J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(5):1729-1738.
- [25] van Zijl F, Mair M, Csiszar A, et al. Hepatic tumor-stroma crosstalk guides epithelial to mesenchymal transition at the tumor edge[J]. *Oncogene*, 2009, 28(45):4022-4033.
- [26] Amann T, Bataille F, Spruss T, et al. Activated hepatic stellate cells promote tumorigenicity of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(4):646-653.
- [27] Okabe H, Beppu T, Hayashi H, et al. Hepatic stellate cells accelerate the malignant behavior of cholangiocarcinoma cells[J]. *Ann Surg Oncol*, 2011, 18(4):1175-1184.
- [28] Ju MJ, Qiu SJ, Fan J, et al. Peritumoral activated hepatic stellate cells predict poor clinical outcome in hepatocellular carcinoma after curative resection[J]. *Am J Clin Pathol*, 2009, 131(4):498-510.
- [29] Rockey DC. Hepatic blood flow regulation by stellate cells in normal and injured liver[J]. *Semin Liver Dis*, 2001, 21(3):337-349.
- [30] 鲁彦,林丽,袁文俊. 内皮素家系的新成员——内皮素₁₋₃₁[J]. *生理科学进展*, 2005, 36(1):41-44.
- [31] Kojima H, Sakurai S, Kuriyama S, et al. Endothelin-1 plays a major role in portal hypertension of biliary cirrhotic rats through endothelin receptor subtype B together with subtype A in vivo[J]. *J Hepatol*, 2001, 34(6):805-811.
- [32] Cichoz-Lach H, Celiński K, Słomka M, et al. Pathophysiology of portal hypertension[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2008, 59 Suppl 2:231-238.

(收稿日期: 2013-10-21)

(本文编辑: 张昊)