

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.09.1092

• 专题报道 •

肝脏干细胞研究与应用存在的问题及对策

林 勇,曾 欣,谢渭芬*
第二军医大学长征医院消化内科,上海 200003

[摘要] 干细胞是目前生物医学的研究热点之一。近年研究发现肝脏中存在多种具有不同标志物的干细胞,在肝脏再生中具有重要作用;自体及异体干细胞移植治疗终末期肝病也取得了一定进展。但肝干细胞的来源及标志物尚未完全阐明,肝干细胞的增殖和分化调控机制仍有待深入研究。随着谱系追踪技术、干细胞分离和培养体系的发展与成熟,肝干细胞的来源及其在肝再生中的作用将会进一步明确,肝病干细胞治疗有望成为现实。

[关键词] 肝干细胞;干细胞标志物;干细胞移植;慢性疾病

[中图分类号] R 575 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2017)09-1092-06

Problems and countermeasures in liver stem cell research and application

LIN Yong, ZENG Xin, XIE Wei-fen*
Department of Gastroenterology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[Abstract] Stem cell has been one of the focuses in current biomedical research. It has been well documented that there are various liver stem cells (LSCs) with different markers in liver, and they play important roles in liver regeneration. Moreover, some progresses have been made in autologous and allogeneic stem cells transplantation for the treatment of end-stage liver diseases. However, the origin and markers of LSCs have not been fully clarified, and the mechanism involved in LSCs proliferation and differentiation remains to be deeply studied. With the improvements of lineage tracing technique and stem cell isolation and culture system, it is believed that the origin of LSCs and their role in liver regeneration will be further clarified, and LSCs treatment for liver diseases will soon become a reality.

[Key words] liver stem cells; stem cell markers; stem cell transplantation; chronic liver diseases

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(9): 1092-1097]

人类提出干细胞(stem cell)概念已有 100 余年时间,然而真正发现并证实干细胞的存在始于 20 世纪 60 年代。1963 年造血干细胞被发现标志着干细胞时代的真正到来,此后干细胞一直是生物医学领域的研究热点。由于干细胞具有强大的自我复制和分化潜能,利用干细胞实现组织器官再生一直是科学家探索的方向。近 20 年,细胞谱系追踪技术、干细胞诱导技术逐渐成熟,肝干细胞(liver stem cells, LSCs)的研究也取得许多重要进展。随着干细胞在越来越多疾病临床应用中的不断推进, LSCs 治疗的春天是否来临了呢?

1 LSCs 的来源及标志物

干细胞是一类具有自我更新和分化潜能的细

胞,依据干细胞的分化潜能可将其分为全能干细胞、多能干细胞、单能干细胞等。一般认为, LSCs 至少可分化为肝脏的两种主要上皮细胞,即肝细胞和胆管上皮细胞,通常也将可向这两种细胞分化的干细胞称为肝前体细胞(hepatic progenitor cells, HPCs)。然而,尽管有诸多研究寻找和描述了各种 LSCs/HPCs,其来源及特征性标志物迄今仍尚未被完全阐明^[1-2]。

在胚胎肝脏发育过程中,前肠内胚层的部分细胞表达 HEX、肝细胞核因子 4α(hepatocyte nuclear factor 4α, HNF4α)、甲胎蛋白(α-fetoprotein, AFP)及白蛋白(albumin, ALB),并逐渐向肝脏分化,这部分细胞被认为是肝脏发育过程中的 LSCs/HPCs,又被称为“肝母细胞(hepatoblast)”。DLK1、CD133、

Liv2、上皮细胞黏附分子(EpCAM)等多种分子被报道为肝母细胞的特征性标志物,因此可认为在肝脏发育的不同阶段、不同部位可能具有表型不完全相同的多种 LSCs/HPCs^[1-2]。

与肝脏发育过程相似,不同研究发现成熟肝脏中 LSCs/HPCs 的标志物也不尽相同,目前被认为可能的标志物包括 EpCAM、SOX9、骨桥蛋白(OPN)、OV-6、CK-19、CD133、Lgr5、Axin2、CD34 和 Scal-1 等,表达上述标志物的细胞均曾被报道具有 LSCs/HPCs 的生物学特性,可向肝细胞及胆管上皮细胞分化^[3-4],但尚需更明确的细胞谱系追踪(lineage tracing)研究证实。

有研究认为,骨髓干细胞和肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)是 LSCs/HPCs 的来源,但均缺乏明确和统一的谱系追踪证据^[2,5-8]。近年来大量研究发现,成熟的肝细胞在慢性肝损伤过程中可通过体内细胞重编程产生具有 LSCs 特征的细胞并参与肝再生^[9-10]。此外,在正常肝脏汇管区周围存在一群杂合肝细胞,它们既表达干细胞标志物 SOX9,也表达肝细胞标志物 HNF4 α 。慢性肝损伤后这些细胞大量增生,促进肝再生,表明 SOX9⁺杂合肝细胞在慢性肝损伤过程中也具有 LSCs 特性^[3]。Huch 等^[11]发现,肝脏受损时可产生 Lgr5⁺细胞,这些细胞可分化为肝细胞和胆管细胞,可能是潜在的 LSCs/HPCs。Wang 等^[12]通过谱系追踪技术在正常小鼠肝脏中央静脉周围发现一类增殖能力很强的 Axin2⁺二倍体细胞,该细胞可持续自我更新,并大量表达具有维持细胞多潜能性作用的转录因子 Tbx3;此外,该细胞还可从中央静脉向外扩增,且向肝细胞分化,1 年内更换肝脏内约 40% 的肝细胞,表明这种 Axin2⁺二倍体细胞也具有 LSCs 特性。

位于胆管末端 Hering 管的小胆管细胞长期被认为是潜在的 LSCs/HPCs 来源。发生慢性肝损伤时,胆管细胞可发生“胆管反应(ductular reaction)”或“卵圆细胞反应(oval cell reaction)”,进而活化、增殖并向肝细胞分化。但细胞谱系研究发现 OPN⁺或 HNF1 β ⁺的胆管细胞在肝再生过程中仅能产生极少量的成熟肝细胞^[13-14],因此胆管细胞是否是潜在的 LSCs/HPCs 来源仍有较多争议。Raven 等^[15]研究发现,利用过表达 *p21* 抑制小鼠成熟肝细胞增殖后,CK19⁺胆管上皮细胞可在慢性肝损伤过程中产生约 15% 的肝细胞,证实胆管细胞可作为兼性干细

胞(facultative liver stem cells)参与肝再生。

总之,在正常肝脏及肝损伤过程中可能存在多种不同来源的 LSCs/HPCs,它们在肝脏自我更新和损伤修复过程中发挥着重要作用,这也是肝脏具有强大再生能力的生理病理基础。然而,不同 LSCs/HPCs 之间是否可相互转化? 不同表型的 LSCs/HPCs 作用是否相同? 哪一种表型的 LSCs/HPCs 功能最强大? 这些问题均需要不同的实验模型来进一步明确。此外,目前对 LSCs/HPCs 来源的研究多集中于动物模型,而人类肝病与常用的动物模型在发病机制和病程方面存在差别,因此人慢性肝病过程中 LSCs/HPCs 的来源需要在人慢性肝病标本中进行验证。由此,全面系统阐明肝脏发育及损伤修复过程中 LSCs/HPCs 的来源及其演变规律,不仅有利于更深刻地理解肝脏的发育、分化及功能,还将为 LSCs 临床治疗奠定基础。

2 LSCs/HPCs 增殖与分化的分子机制

迄今为止,调控 LSCs/HPCs 增殖分化的因素尚未完全阐明。研究发现,间皮细胞(mesothelial cells)、间质细胞(mesenchymal cells)和内皮细胞(endothelial cell)以及许多细胞因子、信号通路均参与 LSCs/HPCs 增殖分化的调控。

早在 2001 年就有学者发现胚胎肝脏发育早期需要依赖 Flk1⁺ 内皮细胞,当 *Flk1* 缺失时,胚胎内皮细胞缺陷,胎肝细胞无法正常增殖^[16]。在胚胎发育后期,内胚层胚芽来源的不成熟间皮细胞可在体外促进 Dlk1⁺ 肝母细胞增殖;而对间皮细胞发育至关重要的转录因子 Wilms' 肿瘤抑制基因(Wilms' tumor suppressor gene, *Wt1*)缺失后,肝脏体积会显著缩小;间皮细胞调控 LSCs/HPCs 增殖活化的机制可能为分泌肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、肝素结合细胞因子(midkine)、多效蛋白(pleiotrophin)等^[17]。来源于胎肝的 Thy1⁺ 间质细胞与 CD49f⁺ HPCs 共培养可促进其肝细胞表型标志物的表达,而内胚层胚芽来源的造血干细胞可通过分泌抑瘤素 M(oncostatin M, OSM)等细胞因子促进肝细胞代谢酶的表达,上述细胞均对 LSCs/HPCs 向肝细胞的分化至关重要^[18-19]。此外,HPCs 本身也有促进其分化的作用,体外研究发现胚胎干细胞来源的 HPCs 可诱导 *KDR*⁻ AFP⁺ 肝细胞向成熟表型分化^[20]。LSCs/

HPCs 向胆管细胞的分化则受 Notch 及转化生长因子 β (TGF- β)/activin 信号通路调节。在小鼠体内双敲除 Notch 信号通路的两个重要成员 *NOTCH2* 和 *JAGGED1* 可导致小鼠肝内胆管缺失,在体内外激活或抑制 Notch 及 TGF- β /activin 信号通路均可显著影响胆管形成及分化^[21-23]。

随着对 LSCs/HPCs 产生及分化认识的深入,目前已构建了体外诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)向成熟肝细胞分化的体系,利用在肝脏发育和肝细胞分化过程中发挥重要作用的细胞因子骨形态发生蛋白 4(bone morphogenetic protein 4, BMP4)、成纤维细胞生长因子 2(fibroblast growth factor 2, FGF2)、HGF 以及 OSM 可成功诱导 iPSCs 分化为成熟肝细胞^[24]。但是,由于体外培养的成熟肝细胞将很快丧失功能,也有很多学者致力于建立具有自我更新能力和肝细胞分化潜能的体系。有研究报道,采用与间质细胞共培养或过表达肝脏分化过程中的重要基因等方法可诱导 iPSCs 产生 LSCs/HPCs,并成功治疗各种原因导致的肝损伤动物模型^[25]。Huch 等^[11]成功从成年人肝脏中分离出可分化为肝细胞和胆管细胞的 *Lgr5*⁺ 干细胞,并建立了体外长期培养系统,使从患者肝脏内分离培养获得 LSCs 并应用于临床成为可能。近年来,日本学者和我国学者分别利用小分子重编程技术成功构建了原代肝细胞在体外向肝前体细胞转变和快速增殖的培养系统,利用该系统获得增殖的前体样肝细胞经定向诱导分化后,具有成熟肝细胞的功能,移植入 Fah 缺陷小鼠体内可达 70% 以上的整合^[26-27]。

3 LSCs/HPCs 在肝再生中的作用

早期研究发现,发生亚急性、急性肝损伤及爆发性肝功能衰竭时 HPCs 数量会升高,且主要聚集于肝脏炎症坏死严重的区域;而在慢性病毒性肝炎、酒精性肝损伤、非酒精性脂肪性肝病及原发性胆汁性胆管炎等患者中,卵圆细胞的数量及其向肝细胞样细胞分化的程度与肝细胞损伤和炎症程度相关;动物实验也发现,不同原因诱导的慢性肝损伤模型中 SOX9、OPN 等表达阳性的 HPCs 可向肝细胞分化^[3,28-31]。上述研究均证实 LSCs/HPCs 参与急性肝损伤后的肝再生修复过程,但 LSCs/HPCs 在不同损伤过程及损伤的不同阶段发挥的作用尚存

争议。

目前多数研究认为,残存成熟肝细胞持续分裂是各种急性肝损伤后肝再生最重要的方式;但有少数研究报道在急性肝损伤中未发现 LSCs/HPCs 特异性标志物,在慢性肝损伤的动物模型中发现的 LSCs/HPCs 来源的新生肝细胞比例也很低^[30-31]。此外,还有研究提出慢性肝损伤中 HPCs 的活化可能会抑制肝细胞增殖,促进肝细胞凋亡,并增强 TGF- β 1、 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA)和基质金属蛋白酶抑制剂-1(TIMP-1)等致纤维化因子或细胞外基质成分的表达,加速纤维化进程而不利于肝再生^[31]。因此有学者质疑 LSCs/HPCs 在肝损伤再生中的价值。然而,LSCs/HPCs 的标志物众多,上述研究未必包含所有表型的 LSCs/HPCs,而不同类型和来源的 LSCs/HPCs 在成熟肝脏及不同类型肝损伤中可能发挥不同作用,因此不同学者开展的实验研究结果差异很大,故仍需进一步探讨不同表型 LSCs/HPCs 在不同类型肝损伤中的演变规律及作用。

4 LSCs/HPCs 在肝病领域的临床应用探讨

基于干细胞在肝脏分化、发育、损伤修复及再生中可能具有的重要作用,干细胞移植一直被认为是可能成为未来替代肝移植的治疗手段。然而,由于成熟肝脏中 LSCs/HPCs 的含量很低,获取十分困难,临床上难以广泛应用。目前多尝试从骨髓、脂肪以及脐带血等组织中分离得到自体或异基因的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs),用于治疗急慢性肝功能衰竭及终末期肝病。

早在 2009 年,Kharaziha 等^[32]开展的一项 II 期临床研究采用自体骨髓 MSCs 治疗 80 例终末期肝病患者,随访 24 周,可见患者肝功能明显改善,MELD 评分由 17.9 ± 5.6 降至 10.7 ± 6.3 ,未发现明显不良反应。之后有多项临床研究分别采用人脐带血来源的 MSCs、自体骨髓 MSCs 治疗乙型肝炎、丙型肝炎、原发性胆汁性胆管炎等导致的肝硬化失代偿期、慢加急性肝衰竭患者,其短期(24 周)疗效均较为理想;患者的 ALB 水平升高,胆红素水平下降,腹水减少,肝脏功能改善,12~24 周内的生存率显著升高^[33-34]。最近 Lin 等^[35]开展的开放随机对照临床研究发现,MSCs 可降低乙型肝炎相关慢加急性肝功能衰竭患者严重感染的发生率。但值得注

意的是,尽管多数研究结果令人兴奋,最近也有干细胞移植治疗慢性肝病的阴性结果。2016年欧洲肝病年会上,英国国立卫生研究院伯明翰肝脏生物医学研究所报道的一项包括81例患者的Ⅱ期、多中心、开放研究发现,重复回输粒细胞集落刺激因子(G-CSF)诱导自体CD133⁺骨髓干细胞并不能改善肝硬化患者的MELD评分及纤维化程度^[36]。

此外,尽管多数研究肯定了外源性移植干细胞改善肝功能状况的效果,但发现这些外来干细胞很难真正定植于肝脏,它们主要是通过旁分泌多种细胞因子、抗肝纤维化、促血管生成、调节免疫等作用改变肝脏局部微环境,进而促进肝脏的损伤修复和功能恢复^[37-39]。肝脏本身来源的LSCs/HPCs可能更适合患者的肝脏内环境,实现真正意义上的定植及转化。2015年Zuo等^[40]成功建立了能稳定扩增肺干细胞的体外培养体系,并从小鼠气道上皮中分离p63⁺Krt5⁺干细胞,经体外扩增后移植于肺损伤模型中可分化为Ⅰ型和Ⅱ型肺泡上皮细胞,并重建气道结构、减轻肺纤维化、改善肺功能;初步临床研究表明,从慢性阻塞性肺病患者的支气管刷检样本中分离干细胞,经扩增后移植于患者气道能显著改善肺功能。这些研究结果表明直接抽取肝病患者肝组织分离培养具有分化潜能的干细胞,有可能成为治疗急、慢性肝功能衰竭的有效手段。

综上所述,干细胞在肝脏发育和损伤修复中发挥着至关重要的作用,干细胞移植作为治疗急性肝功能衰竭和终末期肝病一种手段,具有广阔的应用前景,但目前仍有诸多问题亟需解决。首先,目前一般认为现有的干细胞移植技术中,干细胞并非主要通过定植于肝脏发挥作用,而是通过改变肝脏局部微环境改善肝功能,其远期疗效尚待进一步观察,利用最新的体外扩增系统直接从患者肝脏中分离培养获得LSCs/HPCs可能具有更理想的疗效。其次,LSCs/HPCs的表型标志物众多,深入探讨其演变规律及其在肝脏发育再生中的作用对于筛选效果最佳、安全性最可靠的LSCs/HPCs用于临床治疗十分重要。第三,作为细胞移植技术,干细胞的获取均需经过分离、培养、扩增等环节,部分还可能需诱导分化,这些过程如何质控、如何确保治疗的安全性目前尚无统一标准。细胞移植的途径、数量及疗程等也有待进一步明确。第四,肝脏疾病病因较多,发病机制迥异,在疾病的不同阶段肝脏的再生机制也不

同,如何选择“匹配”的LSCs/HPCs用于治疗是一个难题。尽管干细胞在肝脏疾病中的应用障碍仍多,困难不少,但相信谱系追踪技术的发展将进一步确定LSCs/HPCs的来源及其在肝再生中的作用,干细胞分离和培养体系的完善将为肝脏疾病的治疗提供强有力的武器,肝病干细胞治疗的春天很快就会到来。

参考文献

- [1] WU J, IZPISUA BELMONTE J C. Stem cells: a renaissance in human biology research[J]. Cell, 2016, 165: 1572-1585.
- [2] MIYAJIMA A, TANAKA M, ITOH T. Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration, and reprogramming[J]. Cell Stem Cell, 2014, 14: 561-574.
- [3] FURUYAMA K, KAWAGUCHI Y, AKIYAMA H, HORIGUCHI M, KODAMA S, KUHARA T, et al. Continuous cell supply from a Sox9-expressing progenitor zone in adult liver, exocrine pancreas and intestine[J]. Nat Genet, 2011, 43: 34-41.
- [4] PETERSEN B E, GROSSBARD B, HATCH H, PI L, DENG J, SCOTT E W. Mouse A6-positive hepatic oval cells also express several hematopoietic stem cell markers[J]. Hepatology, 2003, 37: 632-640.
- [5] YANG L, JUNG Y, OMENETTI A, WITEK R P, CHOI S, VANDONGEN H M, et al. Fate-mapping evidence that hepatic stellate cells are epithelial progenitors in adult mouse livers [J]. Stem Cells, 2008, 26: 2104-2113.
- [6] TARLOW B, PELZ C, NAUGLER W, WAKEFIELD L, WILSON E, FINEGOLD M, et al. Bipotential adult liver progenitors are derived from chronically injured mature hepatocytes[J]. Cell Stem Cell, 2014, 15: 605-618.
- [7] MEDERACKE I, HSU C C, TROEGER J S, HUEBENER P, MU X, DAPITO D H, et al. Fate tracing reveals hepatic stellate cells as dominant contributors to liver fibrosis independent of its aetiology[J]. Nat Commun, 2013, 4: 2823.
- [8] AVITAL I, FERARESSO C, AOKI T, HUI T, ROZGA J, DEMETRIOU A, et al. Bone marrow-derived liver stem cell and mature hepatocyte engraftment in livers undergoing rejection [J]. Surgery, 2002, 132: 384-390.

- [9] GAÇA M D, PICKERING J A, ARTHUR M J, BENYON R C. Human and rat hepatic stellate cells produce stem cell factor: a possible mechanism for mast cell recruitment in liver fibrosis[J]. *J Hepatol*, 1999, 30: 850-858.
- [10] FONT-BURGADA J, SHALAPOUR S, RAMASWAMY S, HSUEH B, ROSSELL D, UMEMURA A, et al. Hybrid periportal hepatocytes regenerate the injured liver without giving rise to cancer[J]. *Cell*, 2015, 162: 766-779.
- [11] HUCH M, DORRELL C, BOJ S F, VAN ES J H, LI V S, VAN DE WETERING M, et al. *In vitro* expansion of single Lgr5⁺ liver stem cells induced by Wnt-driven regeneration[J]. *Nature*, 2013, 494: 247-250.
- [12] WANG B, ZHAO L, FISH M, LOGAN C Y, NUSSE R. Self-renewing diploid Axin2⁺ cells fuel homeostatic renewal of the liver[J]. *Nature*, 2015, 524: 180-185.
- [13] RODRIGO-TORRES D, AFFÒ S, COLL M, MORALES-IBANEZ O, MILLÁN C, BLAYA D, et al. The biliary epithelium gives rise to liver progenitor cells[J]. *Hepatology*, 2014, 60: 1367-1377.
- [14] ESPAÑOL-SUÑER R, CARPENTIER R, VAN HUL N, LEGRY V, ACHOURI Y, CORDI S, et al. Liver progenitor cells yield functional hepatocytes in response to chronic liver injury in mice [J/OL]. *Gastroenterology*, 2012, 143: 1564-1575. e7. doi:10.1053/j.gastro.2012.08.024.
- [15] RAVEN A, LU W Y, MAN T Y, FERREIRA-GONZALEZ S, O'DUIBHIR E, DWYER B J, et al. Cholangiocytes act as facultative liver stem cells during impaired hepatocyte regeneration[J]. *Nature*, 2017, 547: 350-354.
- [16] MATSUMOTO K, YOSHITOMI H, ROSSANT J, ZARET K S. Liver organogenesis promoted by endothelial cells prior to vascular function[J]. *Science*, 2001, 294: 559-563.
- [17] YAP K K, DINGLE A M, PALMER J A, DHILLON R S, LOKMIC Z, PENINGTON A J, et al. Enhanced liver progenitor cell survival and differentiation *in vivo* by spheroid implantation in a vascularized tissue engineering chamber [J]. *Biomaterials*, 2013, 34: 3992-4001.
- [18] HOPPO T, FUJII H, HIROSE T, YASUCHIKA K, AZUMA H, BABA S, et al. Thy1-positive mesenchymal cells promote the maturation of CD49f-positive hepatic progenitor cells in the mouse fetal liver [J]. *Hepatology*, 2004, 39: 1362-1370.
- [19] KAMIYA A, KOJIMA N, KINOSHITA T, SAKAI Y, MIYAIJMA A. Maturation of fetal hepatocytes *in vitro* by extracellular matrices and oncostatin M: induction of tryptophan oxygenase [J]. *Hepatology*, 2002, 35: 1351-1359.
- [20] GOLDMAN O, HAN S, SOURISSEAU M, SOURISSEAU M, DZIEDZIC N, HAMOU W, et al. KDR identifies a conserved human and murine hepatic progenitor and instructs early liver development [J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 12: 748-760.
- [21] ZONG Y, PANIKKAR A, XU J, ANTONIOU A, RAYNAUD P, LEMAIGRE F, et al. Notch signaling controls liver development by regulating biliary differentiation [J]. *Development*, 2009, 136: 1727-1739.
- [22] HOFMANN J J, ZOVEIN A C, KOH H, RADTKE F, WEINMASTER G, IRUELA-ARISPE M L. Jagged1 in the portal vein mesenchyme regulates intrahepatic bile duct development: insights into Alagille syndrome[J]. *Development*, 2010, 137: 4061-4072.
- [23] CLOTMAN F, JACQUEMIN P, PLUMB-RUDEWIEZ N, PIERREUX C E, VAN DER SMISSEN P, DIETZ HC, et al. Control of liver cell fate decision by a gradient of TGF beta signaling modulated by Onecut transcription factors[J]. *Genes Dev*, 2005, 19: 1849-1854.
- [24] SI-TAYEB K, NOTO F K, NAGAOKA M, LI J, BATTLE M A, DURIS C, et al. Highly efficient generation of human hepatocyte-like cells from induced pluripotent stem cells [J]. *Hepatology*, 2010, 51: 297-305.
- [25] ZHU S, REZVANI M, HARBELL J, MATTIS A N, WOLFE A R, BENET L Z, et al. Mouse liver repopulation with hepatocytes generated from human fibroblasts[J]. *Nature*, 2014, 508: 93-97.
- [26] KATSUDA T, KAWAMATA M, HAGIWARA K, TAKAHASHI R U, YAMAMOTO Y, CAMARGO F D, et al. Conversion of terminally committed hepatocytes to culturable bipotent progenitor cells with regenerative capacity[J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20: 41-55.
- [27] WU H, ZHOU X, FU G B, HE Z Y, WU H P, YOU P, et al. Reversible transition between hepatocytes and

- liver progenitors for *in vitro* hepatocyte expansion[J]. Cell Res, 2017, 27: 709-712.
- [28] KATOONIZADEH A, NEVENS F, VERSLYPE C, PIRENNE J, ROSKAMS T. Liver regeneration in acute severe liver impairment: a clinicopathological correlation study[J]. Liver Int, 2006, 26: 1225-1233.
- [29] ZHOU H, ROGLER L E, TEPERMAN L, MORGAN G, ROGLER C E. Identification of hepatocytic and bile ductular cell lineages and candidate stem cells in bipolar ductular reactions in cirrhotic human liver[J]. Hepatology, 2007, 45: 716-724.
- [30] LUKACS-KORNEK V, LAMMERT F. The progenitor cell dilemma: cellular and functional heterogeneity in assistance or escalation of liver injury [J]. J Hepatol, 2017, 66: 619-630.
- [31] KURAMITSU K, SVERDLOV D Y, LIU S B, CSIZMADIA E, BURKLY L, SCHUPPAN D, et al. Failure of fibrotic liver regeneration in mice is linked to a severe fibrogenic response driven by hepatic progenitor cell activation[J]. Am J Pathol, 2013, 183: 182-194.
- [32] KHARAZIHA P, HELLSTRÖM P M, NOORINAYER B, FARZANEH F, AGHAJANI K, JAFARI F, et al. Improvement of liver function in liver cirrhosis patients after autologous mesenchymal stem cell injection: a phase I - II clinical trial[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2009, 21: 1199-1205.
- [33] SHI M, ZHANG Z, XU R, LIN H, FU J, ZOU Z, et al. Human mesenchymal stem cell transfusion is safe and improves liver function in acute-on-chronic liver failure patients[J]. Stem Cells Transl Med, 2012, 1: 725-731.
- [34] MOHAMADNEJAD M, ALIMOGHADDAM K, BAGHERI M, ASHRAFI M, ABDOLLAHZADEH L, AKHLAGHPoor S, et al. Randomized placebo-controlled trial of mesenchymal stem cell transplantation in decompensated cirrhosis[J]. Liver Int, 2013, 33: 1490-1496.
- [35] LIN B L, CHEN J F, QIU W H, WANG K W, XIE D Y, CHEN X Y, et al. Allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stromal cells for HBV-related acute-on-chronic liver failure: a randomized controlled trial[J]. Hepatology, 2017, 66: 209-219.
- [36] KING A, BARTON D, BEARD H A, THAN N, MOORE J, CORBETT C, et al. Repeated AutoLogous Infusions of Stem Cells in Cirrhosis (REALISTIC): a multicentre, phase II, open-label, randomised controlled trial of repeated autologous infusions of granulocyte colony-stimulating factor (GCSF) mobilised CD133⁺ bone marrow stem cells in patients with cirrhosis. A study protocol for a randomised controlled trial[J/OL]. BMJ Open, 2015, 5: e007700. doi: 10.1136/bmjopen-2015-007700.
- [37] ITOH T. Stem/progenitor cells in liver regeneration [J]. Hepatology, 2016, 64: 663-668.
- [38] WANG X, WILLENBRING H, AKKARI Y, TORIMARU Y, FOSTER M, AL-DHALIMY M, et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes[J]. Nature, 2003, 422: 897-901.
- [39] SHI D, ZHANG J, ZHOU Q, XIN J, JIANG J, WU T, et al. Quantitative evaluation of human bone mesenchymal stem cells rescuing fulminant hepatic failure in pigs[J]. Gut, 2017, 66: 955-964.
- [40] ZUO W, ZHANG T, WU D Z, GUAN S P, LIEW A A, YAMAMOTO Y, et al. p63⁺ Krt5⁺ distal airway stem cells are essential for lung regeneration [J]. Nature, 2015, 517: 616-620.

[本文编辑] 曾奇峰