

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.01129

• 综述 •

# 肝前体细胞生物学特性及调控机制的研究进展

王明达, 王超\*, 吴孟超

第二军医大学东方肝胆外科医院, 上海 200438

**[摘要]** 肝前体细胞(HPCs)是肝脏内具有自我更新、高度增殖和多向分化潜能的成体干细胞, 不仅与肝脏再生修复密切相关, 也与原发性肝癌发生、发展密切相关。本文简要总结了近几年有关肝前体细胞的生物学特性、来源、定位以及多种信号调控通路在其增殖、分化及形成肿瘤中的作用等研究进展。

**[关键词]** 肝前体细胞; 细胞分化; 标志物; 肝细胞癌; 信号通路

**[中图分类号]** R 333.4

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 0258-879X(2012)10-1129-06

## Biological characteristics and regulatory mechanisms of hepatic progenitor cells: recent progress

WANG Ming-da, WANG Chao\*, WU Meng-chao

Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

**[Abstract]** Hepatic progenitor cells (HPCs) are adult stem cells with self-renewing, high proliferation and multi-directional differentiation abilities. HPCs are closely associated with liver regeneration and the development of hepatocellular carcinoma (HCC). This article reviews recent research progress in biological characteristics, source, location of HPCs and the roles of various HPCs signalings in the proliferation, differentiation and development of HCC.

**[Key words]** hepatic progenitor cells; cell differentiation; biomarker; hepatocellular carcinoma; signaling pathway

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(10): 1129-1134]

肝前体细胞(hepatic progenitor cells, HPCs), 是一类具有自我更新、较强增殖能力及多向分化潜能的干细胞群, 由于其在肝损伤修复过程中可向肝细胞及胆管上皮细胞分化, 也被认为是肝脏祖细胞类型<sup>[1]</sup>。目前认为多种分子及信号通路参与调控 HPCs 的活化、增殖和分化, 而调控的异常可导致 HPCs 过度激活和增殖甚至形成肿瘤干细胞, 与肝细胞癌(HCC)的发生、发展密切相关, 近年来也有较多关于二者之间关系的研究报道。现就 HPCs 的生物学特征和相关调控机制及其在 HCC 发生、发展过程中的作用等方面的研究进展作一综述。

### 1 HPCs 的生物学特性

1956年 Farber 在大鼠化学诱癌模型中发现, 在肝脏严重损伤, 肝细胞大量坏死、增殖能力受限时, 肝内汇管区及终末胆管树(Hering管)出现一些胞质少、核卵圆形、核浆比例大、胞浆嗜碱性且浅染的小细胞群落的活化与增生, 并分化成为肝细胞和胆管上皮细胞, 参与肝脏的修复再生, 依其形态学特点而称之为卵圆细胞, 并认为是啮齿类动物的肝干细胞群。随后越来越多的研究指出 HPCs 事实上并非均质同一的细胞群, 而是具有多种细胞类型、成分复杂的细胞群, 包括祖细胞、成熟胆管细胞、活化的肝星状细胞、成纤维细胞及其他在 HPCs 激活过程中出现在周围的细胞<sup>[2]</sup>。

### 2 HPCs 标志物和起源

HPCs 表面有大量生物标记蛋白, 包括肝细胞标志物波形蛋白、甲胎蛋白和胆管上皮细胞标志物细胞角质蛋白 19 (cytokeratin19, CK19)、 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶 ( $\gamma$ -glutamyl-transpeptidase,  $\gamma$ -GGT) 等<sup>[3-4]</sup>。随着研究的深入, 分化抗原簇 133(cluster of differentiation 133, CD133)、卵圆细胞标记蛋白 6(oval cell antigen 6, OV6) 和上皮细胞黏附分子(epithelial cellular adhesion molecule, EpCam) 等新发现的标志物被认为在辨认和标记 HPCs 中具有重要意义。

2.1 CD133 有学者报道, 肝损伤模型中门脉区域显著扩大的 CD133<sup>+</sup> 细胞群参与肝脏修复并分化形成肝细胞及胆管细胞两种表型的细胞系<sup>[5]</sup>; 分离的 CD133<sup>+</sup> CD45<sup>-</sup> 细胞群能表达肝细胞和胆管细胞型标志物, 并在移植入裸鼠肝内后形成混合细胞型肿瘤, 提示 CD133<sup>+</sup> HPCs 具有肿瘤干细胞的特征和起始形成肿瘤的能力<sup>[6-7]</sup>。

2.2 OV6 Yang 等<sup>[8]</sup> 在 Huh7 和 SMML7 肝癌细胞系中观察到 OV6<sup>+</sup> 细胞亚群基本均为 CD133<sup>+</sup>, 并且同 OV6<sup>-</sup> 细胞相比, OV6<sup>+</sup> 细胞具有更强的体内致瘤和表达“干性”基因的能力, 提示 OV6<sup>+</sup> 细胞的干(前体)细胞样的特性。

2.3 EpCam 膜蛋白 EpCam 亦为新近发现的 HPCs 标志物<sup>[9]</sup>, 可表达于小胆管细胞和 HPCs; 从 2-AAF/PH 大鼠肝

**[收稿日期]** 2012-05-14

**[接受日期]** 2012-09-26

**[作者简介]** 王明达, 硕士生. E-mail: wangmingda1987@163.com

\* 通信作者(Corresponding author). E-mail: superwang2012@yahoo.cn

中分离的 EpCam<sup>+</sup> 细胞在移植到 DPP4-Rs/PH 大鼠肝中可增殖形成肝细胞和胆管细胞混合型细胞簇,并表达 HPCs 特征性标志物,如 AFP、CK19 和 OV6 等<sup>[10-11]</sup>。染色显示,EpCam<sup>+</sup> Ki67<sup>+</sup> 细胞在正常肝内比例小于 1%,但致癌剂 1,4-二氢-3,5-吡啶二甲酸二乙酯(DDC)处理 1 周和 4 周后分别升至 12.2% 和 17.4%,提示 EpCam 主要表达于增殖的 HPCs 中;同时,与 EpCam 同家族且 50% 同源的滋养层细胞表面抗原(trophoblast cell-surface antigen, Trop2) 在正常肝细胞中无任何表达,但肝损伤导致 HPCs 激活后几乎所有 EpCam<sup>+</sup> 细胞均为 Trop2<sup>+</sup>,提示 Trop2 可能是 HPCs 新型特异的标志物<sup>[12]</sup>。

2.4 其他 近几年研究发现紧密连接蛋白 7(claudin-7)、钙黏蛋白 22(cadherin-22)、基质蛋白 2(matrilin-2)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3(glypican-3, GPC-3)、翼螺旋转录因子 Foxl1 (forkhead boxl1) 等亦可作为 HPCs 标志物<sup>[11,13-15]</sup>。Isabel 等<sup>[16]</sup>在胚胎肝中观察到了 HPCs 并认为成体肝脏的 HPCs 来源于胚胎时期,但也有学者认为 HPCs 同样存在肝外来源,如胰腺或某些器官源性细胞可转化为 HPCs<sup>[17-18]</sup>,其中, HPCs 与造血干细胞有许多相同的表面标志,如 CD34、Thy-1、Sca-1 及 C-kit 等,表明两者之间具有一定的同源性<sup>[19-20]</sup>。Petersen 等<sup>[21]</sup>观察到在受损的成体鼠肝中 HPCs 主要富集在 Sca-1<sup>+</sup>、CD45<sup>+</sup> 和 CD34<sup>+</sup> 区域;体外扩增显示 HPCs 可表达 Sca-1 并具有较强的集落形成、两系分化能力<sup>[22]</sup>。但也有研究认为造血干细胞标志物 Thy-1 主要由成纤维细胞表达而非 HPCs<sup>[12,23]</sup>。这些均支持了 HPCs 具有肝外来源尤其骨髓造血细胞源性的假说,提示两者的发育可能拥有共同的起源<sup>[19]</sup>。

### 3 定位及与微环境的相互作用

一般认为,HPCs 主要定位于终末胆管树——Hering 管周围,即汇管区肝细胞与胆管细胞之间的移行部位。随着研究的深入,逐渐提出了“干细胞龛”的概念<sup>[24]</sup>,即由多种细胞成分如肌成纤维细胞、库普弗细胞、星状细胞、陷窝细胞、免疫细胞及细胞外基质等组成的,存在于肝内细胞之间,可容纳、供养干细胞并保持其持续自我更新能力的微环境。HPCs 与“干细胞龛”的细胞成分之间的相互作用被认为是维持 HPCs 静止状态并调控其增殖和分化的关键因素,主要有以下几种机制。

3.1 肝星状细胞参与 HPCs 的调控 肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的持续活化参与细胞外基质(ECM)的重建和肝纤维化形成,并参与 HPCs 的调控。研究表明,阻滞 HSC 的激活可导致门脉区活化的 HPCs 数量减少,并出现一定数量的形态偏小、仅微弱表达 AFP 的中间过渡状态肝细胞,推测其可能是未彻底分化的 HPCs,提示阻断 HSC 的活化可使 HPCs 的增殖及分化受到抑制<sup>[25]</sup>。

3.2 细胞因子对 HPCs 的影响 龛内细胞分泌的多种分子介质可影响 HPCs 的生物学特性,如 HSC 产生的基质因子 1(stroma derived factor 1, SDF-1)和胰岛素样生长因子结合蛋白 3(insulin-like growth factor binding protein 3, IGFBP-3)在 2-AAF/PH 模型 HPCs 活化高峰期内表达显著增

加<sup>[26-27]</sup>,且 HPCs 活化后可由 IGFBP-3 含量低的门脉周围区域逐渐迁移至 IGFBP-3 表达水平高的中央静脉附近;IGFBP-3 表达受抑制之后 HPCs 的迁移现象消失,但活化的 HPCs 数量反而增多并形成非典型增生的胆管结构,提示 IGFBP-3 的缺失可致 HPCs 过度增殖并失去正常分化为肝细胞的能力,起到控制 HPCs 的增殖、迁移、分化的作用<sup>[27]</sup>。

3.3 信号肽及其他成分与 HPCs 的相互作用 龛内成纤维细胞与 HPCs 分布密切接近并通过旁分泌途径互相影响<sup>[28]</sup>,而 Hedgehog 通路亦可通过效应分子 Foxl1 来调控两者之间的相互作用,促进 HPCs 的迁移和分化<sup>[29-30]</sup>。以上观察也进一步说明“龛”复合体内通过多种细胞、分子介质及信号肽的相互联合作用,为 HPCs 维持稳态提供良好的内环境,并在控制 HPCs 增殖、决定其分化方向等方面起到重要作用。

### 4 信号通路调控的机制

HPCs 产生应答的过程有 4 个不同阶段:激活、增殖、迁移和分化,许多信号转导通路都参与其中,如 Wnt/ $\beta$ -catenin、Notch、Hedgehog、TGF- $\beta$ /Smad、IL-6/Stat3、Hippo、Bmi1 等。另外,也有报道称炎症反应介导通路及其多种成分如 lymphotoxin- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ ,甚至 IL-6、组胺等均可刺激 HPCs 的增殖<sup>[31]</sup>。

4.1 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路中的 Wnt 家族蛋白与细胞膜表面受体 Frd、LRP-5/6 结合后可作用于胞质内的效应蛋白 Dsh,进而阻断下游重要因子  $\beta$ -catenin 的降解,使其积累并转运入核,与转录因子 TCF/LEF 形成复合体,启动包括 c-myc 和 cyclinD1 等在内的一系列靶基因的转录<sup>[32]</sup>。此通路参与调控肝脏 HPCs 的激活和增殖分化的整个过程,亦与 HPCs 导致 HCC 起始和发展有密切相关。

在 DDC 诱导肝损伤时,HPCs 的激活伴有  $\beta$ -catenin 及其靶基因转录活性的明显上调<sup>[33]</sup>;Williams 等<sup>[34]</sup>在 2-AAF/PH 大鼠肝模型中观察到,HPCs 的激活与增殖在 PH 处理后第 3 天出现并在第 9 天达峰,伴有 Wnt1 和  $\beta$ -catenin 表达的相继升高;染色显示 HPCs 均为 Fzd2<sup>+</sup>/Wnt1<sup>-</sup>,而周围肝细胞均为 Fzd2<sup>-</sup>/Wnt1<sup>+</sup>,提示肝细胞可通过旁分泌 Wnt1 引起 HPCs 受体 Fzd2 的上调而启动经典 Wnt 通路;而 Wnt1 敲除后虽不影响 HPCs 的募集和活化,但其正常肝细胞分化的过程受阻而向胆管细胞系增殖,并出现胆管上皮不典型增生,提示 Wnt 通路在 HPCs 分化过程中起重要作用。此外,转染活化型  $\beta$ -catenin(S37Y)的 HPCs 系 WB-F344 细胞表现出更强的体外增殖能力,并在移植到 2-AAF/PH 大鼠肝后形成数量更多的 HPCs 群<sup>[8]</sup>,提示 Wnt 通路可调控 HPCs 的活化和增殖并参与促进肝脏再生的过程。

研究表明,HCC 中存在多种机制导致的  $\beta$ -catenin 核内异常积聚和激活,如  $\beta$ -catenin 编码基因突变、受体 Frizzled-7 的上调等<sup>[35-36]</sup>,而这些发生在 HPCs 时则可诱导其起始形成肿瘤。Yang 等<sup>[8]</sup>在多种 HCC 细胞系中也发现具有干细胞特征的 OV6<sup>+</sup> 细胞亚群的胞质和(或)核内  $\beta$ -catenin 高水平表达,并在移植到 NOD/SCID 小鼠皮下后表现出较强的体内致瘤能力;此外,特异性激活 Wnt 通路后 OV6<sup>+</sup> 细胞群出现明显的富集现象并表现出较强的自我更新能力,亦能高度表

达一些具有“干细胞性的基因 (stemness gene)”产物, 如 Notch1、Bmi1、Nanog 及 Oct4 等, 说明在致瘤过程中可能由多种信号通路相互作用和影响来协同调控。

**4.2 Notch 通路** 人体内完整的 Notch 通路包括 Delata 家族(D $\Delta$ 1, D $\Delta$ 3~4)和 Jagged 家族(Jag1, Jag2)配体、Notch 受体、胞内 DNA 结合蛋白及其他下游效应分子。当配体与受体特异性结合后可释放出 Notch 受体的活化形式(NICD/ICN)并转运至细胞核内, 与效应蛋白结合形成转录活化因子, 调节 Hes/Hey 家族靶基因的转录, 从而激活细胞周期、促进细胞进入分化状态<sup>[37-38]</sup>。

Notch 通路在 HPCs 自我更新、增殖和分化过程中起重要作用。尤其可促使 HPCs 向胆管上皮细胞分化, 甚至使已分化细胞转向胆管细胞; 而阻断效应因子 RBP-j 时, 分化形成的胆管上皮细胞数量明显减少<sup>[39]</sup>。有学者通过 2-AAF/PH 模型研究发现, 肝损伤后 Notch1 和 Hes1 的表达峰值紧随 HPCs 的活化增殖高峰, 并随着 HPCs 逐渐分化而降至正常表达水平; 阻断 Notch 通路则导致激活的 HPCs 无法正常分化为成熟细胞系并且增殖能力增强, 这可能系 Notch 介导的由 HPCs 逐渐转化形成肿瘤起始细胞的机制之一<sup>[4]</sup>。然而, Gao 等<sup>[40]</sup>对 87 例 HCC 样本研究发现, 89% 的样本中 Notch1 明显过表达; 另外, 在 HCC 细胞系中敲除 Notch1 后则发现肿瘤细胞的增殖受到抑制, 凋亡明显增加<sup>[41]</sup>。因此, 关于 Notch 通路在调控 HPCs 参与形成 HCC 的过程中所起到的作用仍存在争议。

**4.3 Hedgehog 通路** Hedgehog(Hh)信号通路主要由分泌型糖蛋白配体 Hedgehog、跨膜蛋白受体 Ptch 和 G 蛋白偶联磷酸化受体 Smo、核转录因子 Gli 蛋白家族及下游靶基因组成。一般情况下 Ptch 与 Smo 结合并抑制 Smo 活性, 当 Hh 存在时可竞争性地与 Ptch 结合从而解除对 Smo 的抑制, 使信号传递而激活下游 Gli 转录因子并启动 Ptch1、Gli1 和 Wnt 等靶基因的表达<sup>[42]</sup>。

在鼠类肝损伤模型中, Hh 通路明显活化并促进 HPCs 的积聚和纤维化修复<sup>[29, 43]</sup>; 而阻断 Hh 通路后, 鼠肝内前体细胞标志物 CK-19、AE1/AE3 和 MPK2 染色的细胞群数量减少, 且胞内 Gli1、Gli2 及调控基因 sFRP1、Ptch 的表达下降<sup>[43]</sup>。Philips 等<sup>[44]</sup>利用 CK19 和 Gli2 共染色发现肝纤维化小鼠肝门脉区及胆管周围区域存在具有 Hh 通路活性的 HPCs 细胞群; 抑制 Smo 后 CK19<sup>+</sup>Gli2<sup>+</sup>细胞数量显著减少, 且 HPCs 标志物表达下降, 提示 Hh 通路在维持 HPCs 数量并调控其增殖方面扮演一定的角色。

另一方面, 也有研究认为活化的 Hh 通路可促进 HPCs 从细胞迁移至肝实质并转化为成纤维细胞参与纤维化修复, 即上皮细胞-间质细胞转变<sup>[30]</sup>。在慢性肝损伤的 Ptc<sup>+/-</sup>小鼠体内, 肌成纤维细胞标志物及间质标志物表达明显上调, 而上皮细胞标志物 CK7、E-cadherin 以及 EMT 抑制因子的表达均下调; 这些效应在阻断通路后均被逆转, 提示活化的 Hh 通路参与调控 HPCs 的分化过程。但也有学者认为是活化的 HPCs 生成 Hh 配体, 为“龕”内肌成纤维细胞提供了旁分泌信号, 从而促进胶原纤维分泌和基质重建, 参与肝纤维化形成<sup>[45]</sup>。

**4.4 TGF- $\beta$ /Smad 通路** TGF- $\beta$  超家族是一类具有调节细胞生长和分化的重要的细胞因子。通路主要通过 TGF- $\beta$  与 I、II 型受体(TGF- $\beta$  R I、II)组成的二聚体对下游多种 Smad 蛋白的磷酸化作用而将信号传至核内, 调控相关靶基因的转录<sup>[46-47]</sup>, 其中 Smad3/4 接头蛋白、 $\beta$ -膜收缩蛋白( $\beta$ -general-spectrin,  $\beta$ 2SP)是关键的调控因子, 并具有抑制肿瘤形成的作用。

TGF- $\beta$  通路参与 HPCs 的调控, 并与 HCC 形成发展有一定的关联。Tang 等<sup>[47]</sup>在人 HCC 标本中分离纯化的 STAT3<sup>+</sup>/Oct4<sup>+</sup> HPCs 为 TGF- $\beta$ R II 和  $\beta$ 2SP 阴性并具有致 HCC 形成的潜能。另在肝脏自发成瘤的 e11<sup>+/-</sup>小鼠的 HPCs 中, 该通路为失活状态。但 IL-6 通路的 IL-6、Stat3 等表达上调, 阻断 IL-6 通路后该小鼠肝脏成瘤能力显著降低, 提示在 HPCs 中 IL-6 通路的活化和 TGF- $\beta$  通路的失活可能导致其向 HCC 演变发展。此外, TGF- $\beta$  通路的失活亦伴有 Wnt 通路的活化。Thenappan 等<sup>[48]</sup>报道,  $\beta$ 2SP 敲除的小鼠在肝损伤时肝细胞增殖修复能力降低, 但不影响 HPCs 群肝门束及胆管周围区域的活化和扩增, 并有胞质及核内  $\beta$ -catenin 表达上调及 Wnt 通路多种蛋白表达增加, 提示 TGF- $\beta$  通路可能通过激活 IL-6 通路及 Wnt 通路间接参与对 HPCs 的调控和影响 HCC 的起始发展, 但其具体的诱导活化机制仍有待进一步研究<sup>[47-48]</sup>。此外, 也有学者发现  $\beta$ 2SP 缺乏亦可造成 HPCs 内细胞周期失调、细胞过度增殖和癌基因表达, 提示  $\beta$ 2SP 是 HCC 形成的触发因素之一<sup>[49]</sup>。

**4.5 Hippo 通路** Hippo 通路是高度保守的生长控制信号通路, 主要通过核心成分 Mst1/2、WW45、LATS1/2 及 Mob1 之间相互磷酸化作用而使下游效应因子 YAP 磷酸化, 无法与转录因子 SD 结合, 导致促细胞增殖和抑制细胞凋亡的靶基因不能正常转录, 起到控制细胞增殖和诱导细胞凋亡的作用<sup>[50-51]</sup>。

在多种人类肿瘤细胞中可见 Hippo 信号的下调和 YAP 表达的增加, 并且该通路亦参与调控肝细胞和 HPCs 的增殖<sup>[52]</sup>。目前认为 HPCs 的活化反应出现在肝细胞增殖受阻时, 即肝细胞增殖对 HPCs 活化有一定的抑制作用<sup>[3]</sup>, 但这种抑制效应在 Hippo 通路失活时消失; Lu 等<sup>[53]</sup>在 Mst1/2 敲除的小鼠肝中观察到正常的肝细胞过度增殖、肝板和肝窦的结构排列紊乱, 大量 HPCs 群围绕胆管周围分布并向肝实质浸润, 说明该通路可能具有维持肝细胞正常静止状态及抑制 HPCs 激活和增殖的作用, 对阻止肿瘤形成有一定的积极意义。同样, Lee 等<sup>[54]</sup>发现在敲除 WW45 后 HPCs 的胞核内可见大量 YAP 聚集、定位, 并表现出较强的体外集落形成能力及体内致瘤能力, 提示 Hippo 通路具有抑制 HPCs 生长增殖和向肿瘤起始细胞转变的作用。

**4.6 Bmi1 通路** Bmi1(B lymphoma moloney murine leukemia virus insertion region 1 homolog)是一种原癌基因, Bmi1 蛋白通过抑制靶基因 Ink4a/Arf 位点而对其编码的 2 种蛋白 p16<sup>Ink4a</sup> 和 p19<sup>Arf</sup> 进行负调控, 起到促进细胞生长、增殖并阻止细胞凋亡的作用<sup>[55]</sup>。

研究表明, Bmi1 通路对 HPCs 自我更新和分化起关键作用。(1)Ink4a/Arf<sup>-/-</sup> HPCs 群表现出较强的集落形成能力,

而 Bmi1 敲除后 HPCs 的 Ink4a/Arf 位点表达明显上调,但生长能力降低<sup>[56]</sup>。此外,从小鼠胚胎中分离的干(前体)细胞及肝癌细胞株中分离出有干细胞特征的“侧群”细胞在转染 Bmi1 基因后可提高其在裸鼠体内的成瘤能力<sup>[57]</sup>,说明 Bmi1 基因主要通过负性调控 Ink4a/Arf 位点来增强 HPCs 自我更新和增殖能力,并起到由 HPCs 过渡至 HCC 的桥梁作用。(2)Bmi1 还可通过 Ink4a/Arf 以外的靶基因对 HPCs 进行调控。Ink4a/Arf<sup>-/-</sup> HPCs 在转染 Bmi1 后 Wnt 通路拮抗因子 Sox17 的表达显著下降,而 Wnt 通路效应因子 cyclinD1 及受体 Fzd7 表达程度上调;但同时转染 Bmi1 和 Sox17 后的 HPCs 再次植入裸鼠内则其成瘤能力明显下降,提示在 Bmi1 通路活化的情况下,HPCs 可通过部分活化的 Wnt 通路来增强其干细胞增殖、自我更新的特性及向恶性细胞转化的潜力<sup>[56,58]</sup>。

#### 4.7 其他

4.7.1 癌基因 PTEN(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10) 研究表明,敲除 PTEN 基因后可活化 AKT2 通路并导致胞内脂质堆积、脂毒性氧化应激和细胞死亡,进而导致肝损伤并诱导 HPCs 自身的活化和增殖;而同时敲除 PTEN 和 AKT2 后,肝损伤程度及 HPCs 的活化程度均减弱,且 HCC 形成延迟,提示 PTEN 的突变缺失可通过 AKT 通路导致慢性肝损伤,进而刺激并诱导 HPCs 增殖和向肿瘤细胞方向转化<sup>[59]</sup>。也有学者发现 PTEN 缺失导致慢性肝损伤情况下可诱导血小板源性生长因子(PDGF)的表达,而 PDGF 作为间质细胞生长控制因子可能通过调控改变 HPCs 微环境“干细胞龛”,从而起到促进 HPCs 迁移和增殖的作用<sup>[60]</sup>。

4.7.2 多发性纤维瘤 II 型基因(neurofibromatosis type 2, NF2) NF2 肿瘤抑制基因编码的 Merlin 蛋白能阻断表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的细胞内摄作用而调控其活性,在细胞-细胞通讯中通过接触抑制作用来阻止细胞过度生长。NF2 的缺失可导致发育或成年小鼠肝 HPCs 逐步活化增殖并最终发展为混合型肿瘤,但不影响已分化的肝细胞;阻断 EGFR 则可抑制 HPCs 的增殖,提示 EGFR 通路的激活可级联放大 HPCs 的增殖效应<sup>[61]</sup>。Sánchez 等<sup>[62]</sup>亦发现 NF<sup>-/-</sup> HPCs 内 EGFR 高水平表达,提示 HPCs 内存在 EGFR 依赖的自分泌调节机制,从而刺激自身的增殖以致形成肿瘤。

4.7.3 微小 RNA-181(miR-181) 近年来研究发现作为内源性、具有调控功能的非编码 RNA 在 HPCs 内有较高含量并密切参与其调控:(1)通过抑制细胞分化转录因子 GATA6 和 CDX2 而阻断其向正常肝细胞的分化;(2)通过下调 Wnt 通路的抑制剂 NLK 来活化 Wnt 通路,促进 HPCs 增殖;(3)在 HCC 细胞群中,miR-181 在具有“干细胞性”的肿瘤细胞中高表达,而抑制 miR-181 后这些细胞数量明显减少,且与细胞分化相关的基因 UGT2B7 和 CYP3A4 表达上调。提示 miR-181 可通过阻遏细胞分化、促进增殖的方式来调控和维持 HPCs 的特性<sup>[63]</sup>。

4.7.4 乙型肝炎病毒 X 蛋白(HBx) HBx 与乙型肝炎病毒(HBV)性 HCC 的形成有关。然而,表达 HBx 的 HPCs 是否

能过度增殖并且发生恶性转化形成肿瘤仍不清楚。最近 Wang 等<sup>[64]</sup>通过对 HBx 转基因小鼠予以致癌剂 DDC 处理而诱导建立肝损伤模型,发现 HBx 可以通过促进 IL-6/STAT3 以及 Wnt 通路来促进 HPCs 的增殖和恶性转化,最终导致肝癌的发生,这也为乙型肝炎病毒相关的 HCC 发生机制提供了新的依据。

## 5 小结

HPCs 是肝脏干细胞,在肝脏再生过程中具有重要作用。随着鉴定、分离和培养技术的提高及相关研究的增多,逐渐发现了更多的 HPCs 标志物及调控因子、调控通路,它们形成复杂的调控网络,互相协调和影响。此外,HPCs 增殖分化过程与原发性肝癌的发生和发展密切相关,虽然已有许多研究致力于这方面,但其具体调控机制仍未阐明,仍有待更深入探究。

## 6 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

## [参考文献]

- [1] Fausto N. Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells[J]. *Hepatology*, 2004, 39: 1477-1487.
- [2] Duncan A W, Dorrell C, Grompe M. Stem cells and liver regeneration[J]. *Gastroenterology*, 2009, 137: 466-481.
- [3] Darwiche H, Petersen B E. Biology of the adult hepatic progenitor cell: "ghosts in the machine"[J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2010, 97: 229-249.
- [4] Pertemen B E. Hepatic "stem" cells: coming full circle[J]. *Biol Cells Mol Dis*, 2001, 27: 590-600.
- [5] Rountree C B, Barsky L, Ge S, Zhu J, Senadheera S, Crooks G M. A CD133-expressing murine liver oval cell population with bilineage potential[J]. *Stem Cells*, 2007, 25: 2419-2429.
- [6] Rountree C B, Ding W, He L, Stiles B. Expansion of CD133-expressing liver cancer stem cells in liver-specific phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10-deleted mice[J]. *Stem Cells*, 2009, 27: 290-299.
- [7] Ma S, Chan K W, Hu L, Lee T K, Wo J Y, Ng I O, et al. Identification and characterization of tumorigenic liver cancer stem/progenitor cells[J]. *Gastroenterology*, 2007, 132: 2542-2556.
- [8] Yang W, Yan H X, Chen L, Liu Q, He Y Q, Yu L X, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling contributes to activation of normal and tumorigenic liver progenitor cells[J]. *Cancer Res*, 2008, 68: 4287-4295.
- [9] Went P T, Lugli A, Meier S, Bundi M, Mirlacher M, Sauter G, et al. Frequent EpCam protein expression in human carcinomas[J]. *Hum Pathol*, 2004, 35: 122-128.
- [10] Yovchev M I, Grozdanov P N, Zhou H. Identification of adult hepatic progenitor cells capable of repopulating injured rat liver[J]. *Hepatology*, 2008, 47: 636-647.
- [11] Yovchev M I, Grozdanov P N, Joseph B, Gupta S, Dabeva M D. Novel hepatic progenitor cell surface markers in the adult rat liver[J]. *Hepatology*, 2007, 45: 139-149.
- [12] Okabe M, Tsukahara Y, Tanaka M, Suzuki K, Saito S, Kamiya

- Y, et al. Potential hepatic stem cells reside in EpCAM<sup>+</sup> cells of normal and injured mouse liver[J]. *Development*, 2009, 136: 1951-1960.
- [13] Szabó E, Lódi C, Korpos E, Batmunkh E, Rottenberger Z, Deák F, et al. Expression of matrilin-2 in oval cells during rat liver regeneration[J]. *Matrix Biol*, 2007, 26: 554-560.
- [14] Grozdanov P N, Yovchev M I, Dabeva M D. The oncofetal protein glypican-3 is a novel marker of hepatic progenitor/oval cells[J]. *Lab Invest*, 2006, 86: 1272-1284.
- [15] Sackett S D, Li Z, Hurtt R, Gao Y, Wells R G, Brondell K, et al. Foxl1 is a marker of bipotential hepatic progenitor cells in mice[J]. *Hepatology*, 2009, 49: 920-929.
- [16] Isabel Z, Miri B, Einav H, Ella B L, Zamir H, Ran O. Isolation, characterization and culture of Thy1-positive cells from fetal rat livers[J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12: 3841-3847.
- [17] Okumura K, Nakamura K, Hisatomi Y, Nagano K, Tanaka Y, Terada K, et al. Salivary gland progenitor cells induced by duct ligation differentiate into hepatic and pancreatic lineages[J]. *Hepatology*, 2003, 38: 104-113.
- [18] Shen C N, Slack J M, Tosh D. Molecular basis of transdifferentiation of pancreas to liver[J]. *Nat Cell Biol*, 2000, 2: 879-887.
- [19] Oh S H, Witek R P, Bae S H, Zheng D, Jung Y, Piscaglia A C, et al. Bone marrow-derived hepatic oval cells differentiate into hepatocytes in 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy-induced liver regeneration[J]. *Gastroenterology*, 2007, 132: 1077-1087.
- [20] Petersen B E, Goff J P, Greenberger J S, Michalopoulos G K. Hepatic oval cells express the hematopoietic stem cell marker Thy-1 in the rat[J]. *Hepatology*, 1998, 27: 433-445.
- [21] 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.
- [22] Tsuchiya A, Heike T, Fujino H, Shiota M, Umeda K, Yoshimoto M, et al. Long-term extensive expansion of mouse hepatic stem/progenitor cells in a novel serum-free culture system[J]. *Gastroenterology*, 2005, 128: 2089-2104.
- [23] Dezsó K, Jelnes P, László V, Baghy K, Bódör C, Paku S, et al. Thy-1 is expressed in hepatic myofibroblasts and not oval cells in stem cell-mediated liver regeneration[J]. *Am J Pathol*, 2007, 171: 1529-1537.
- [24] Moore K A, Lemischka I R. Stem cells and their niches[J]. *Science*, 2006, 311: 1880-1885.
- [25] Pintilie D G, Shupe T D, Oh S H, Salganik S V, Darwiche H, Petersen B E. Hepatic stellate cells' involvement in progenitor mediated liver regeneration[J]. *Lab Invest*, 2010, 90: 1199-1208.
- [26] Zheng D, Oh S H, Jung Y, Petersen B E. Oval cell response in 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy rat is attenuated by short interfering RNA targeted to stromal cell-derived factor-1[J]. *Am J Pathol*, 2006, 169: 2066-2074.
- [27] Steiger-Luther N C, Darwiche H, Oh S H, Williams J M, Petersen B E. Insulin-like growth factor binding protein-3 is required for the regulation of rat oval cell proliferation and differentiation in the 2AAF/PHx model[J]. *Hepat Med*, 2010, 2010: 13-32.
- [28] Sackett S D, Li Z, Hurtt R, Gao Y, Wells R G, Brondell K, et al. Foxl1 is a marker of bipotential hepatic progenitor cells in mice[J]. *Hepatology*, 2009, 49: 920-929.
- [29] Jung Y, Brown K D, Witek R P, Omenetti A, Yang L, Vandonngen M, et al. Accumulation of hedgehog-responsive progenitors parallels alcoholic liver disease severity in mice and humans[J]. *Gastroenterology*, 2008, 134: 1532-1543.
- [30] Syn W K, Jung Y, Omenetti A, Abdelmalek M, Guy C D, Yang L, et al. Hedgehog-mediated epithelial-to-mesenchymal transition and fibrogenic repair in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Gastroenterology*, 2009, 137: 1478-1488.
- [31] Francis H, Glaser S, Demorrow S, Gaudio E, Ueno Y, Venter J, et al. Small mouse cholangiocytes proliferate in response to H1 histamine receptor stimulation by activation of the IP3/CaMK I/CREB pathway[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 295: C499-C513.
- [32] Kestler H A, Kühl M. From individual Wnt pathways towards a Wnt signaling network[J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2008, 363: 1333-1347.
- [33] Apte U, Thompson M D, Cui S, Liu B, Cieply B, Monga S P. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling mediates oval cell response in rodents[J]. *Hepatology*, 2008, 47: 288-295.
- [34] Williams J M, Oh S H, Jorgensen M, Steiger N, Darwiche H, Shupe T, et al. The role of the Wnt family of secreted proteins in rat oval "stem" cell-based liver regeneration[J]. *Am J Pathol*, 2010, 176: 2732-2742.
- [35] Harada N, Oshima H, Katoh M, Tamai Y, Oshima M, Taketo M M. Hepatocarcinogenesis in mice with beta-catenin and Ha-ras gene mutations[J]. *Cancer Res*, 2004, 64: 48-54.
- [36] Loeppen S, Koehle C, Buchmann A, Schwarz M. A beta-catenin dependent pathway regulates expression of cytochrome P450 isoforms in mouse liver tumors[J]. *Carcinogenesis*, 2005, 26: 239-248.
- [37] Sang L, Coiler H A, Roberts J M. Control of the reversibility of cellular quiescence by the transcriptional repressor HES1[J]. *Science*, 2008, 321: 1095-1100.
- [38] Oishi N, Wang X W. Novel therapeutic strategies for targeting liver cancer stem cells[J]. *Int J Biol Sci*, 2011, 7: 517-535.
- [39] 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.
- [40] Gao J, Song Z, Chen Y, Xia L, Wang J, Fan R, et al. Deregulated expression of Notch receptors in human hepatocellular carcinoma[J]. *Dig Liver Dis*, 2008, 40: 114-121.
- [41] Ning L, Wentworth L, Chen H, Weber S M. Down-regulation of Notch1 signaling inhibits tumor growth in human hepatocellular carcinoma[J]. *Am J Transl Res*, 2009, 1: 358-366.
- [42] Yang L, Xie G, Fan Q, Xie J. Activation of the hedgehog-signaling pathway in human cancer and the clinical implications[J]. *Oncogene*, 2010, 29: 469-481.
- [43] Ochoa B, Syn W K, Delgado I, Karaca G F, Jung Y, Wang J, et al. Hedgehog signaling is critical for normal liver regeneration after partial hepatectomy in mice[J]. *Hepatology*, 2010, 51: 1712-1723.

- [44] Philips G M, Chan I S, Swiderska M, Schroder V T, Guy C, Karaca G F, et al. Hedgehog signaling antagonist promotes regression of both liver fibrosis and hepatocellular carcinoma in a murine model of primary liver cancer [J]. *PLoS One*, 2011, 6: e23943.
- [45] Omenetti A, Syn W K, Jung Y, Francis H, Porrello A, Witek R P, et al. Repair-related activation of hedgehog signaling promotes cholangiocyte chemokine production [J]. *Hepatology*, 2009, 50: 518-527.
- [46] Watabe T, Miyazono K. Roles of TGF-beta family signaling in stem cell renewal and differentiation [J]. *Cell Res*, 2009, 19: 103-115.
- [47] Tang Y, Kitisin K, Jogunoori W, Li C, Deng C X, Mueller S C, et al. Progenitor/stem cells give rise to liver cancer due to aberrant TGF- $\beta$  and IL-6 signaling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 2445-2450.
- [48] Thenappan A, Li Y, Kitisin K, Rashid A, Shetty K, Johnson L, et al. Role of transforming growth factor beta signaling and expansion of progenitor cells in regenerating liver [J]. *Hepatology*, 2010, 51: 1373-1382.
- [49] Baek H J, Pishvaian M J, Tang Y, Kim T H, Yang S, Zouhairi M E, et al. Transforming growth factor- $\beta$  adaptor,  $\beta$ 2-spectrin, modulates cyclin dependent kinase 4 to reduce development of hepatocellular cancer [J]. *Hepatology*, 2011, 3: 1676-1684.
- [50] Liu A M, Xu M Z, Chen J, Poon R T, Luk J M. Targeting YAP and Hippo signaling pathway in liver cancer [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2010, 14: 855-868.
- [51] Zeng Q, Hong W. The emerging role of the hippo pathway in cell contact inhibition, organ size control, and cancer development in mammals [J]. *Cancer Cell*, 2008, 13: 188-192.
- [52] Steinhardt A A, Gayyed M F, Klein A P, Dong J, Maitra A, Pan D, et al. Expression of Yes-associated protein in common solid tumors [J]. *Hum Pathol*, 2008, 39: 1582-1588.
- [53] Lu L, Li Y, Kim S M, Bossuyt W, Liu P, Qiu Q, et al. Hippo signaling is a potent *in vivo* growth and tumor suppressor pathway in the mammalian liver [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 1437-1442.
- [54] Lee K P, Lee J H, Kim T S, Kim T H, Park H D, Byun J S, et al. The Hippo-Salvador pathway restrains hepatic oval cell proliferation, liver size, and liver tumorigenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 8248-8253.
- [55] Valk-Lingbeek M E, Bruggeman S W, van Lohuizen M. Stem cells and cancer: the polycomb connection [J]. *Cell*, 2004, 118: 409-418.
- [56] Chiba T, Seki A, Aoki R, Ichikawa H, Negishi M, Miyagi S, et al. Bmi1 promotes hepatic stem cell expansion and tumorigenicity in both Ink4a/Arf-dependent and -independent manners in mice [J]. *Hepatology*, 2010, 52: 1111-1123.
- [57] Chiba T, Miyagi S, Saraya A, Aoki R, Seki A, Morita Y, et al. The polycomb gene product BMI1 contributes to the maintenance of tumor-initiating side population cells in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2008, 68: 7742-7749.
- [58] Xu C R, Lee S, Ho C, Bommi P, Huang S A, Cheung S T, et al. Bmi1 functions as an oncogene independent of Ink4a/Arf repression in hepatic carcinogenesis [J]. *Mol Cancer Res*, 2009, 7: 1937-1945.
- [59] Galicia V A, He L, Dang H, Kanel G, Vendryes C, French B A, et al. Expansion of hepatic tumor progenitor cells in Pten-null mice requires liver injury and is reversed by loss of AKT2 [J]. *Gastroenterology*, 2010, 139: 2170-2182.
- [60] Liu M Y, Eyries M, Zhang C, Santiago F S, Khachigian L M. Inducible platelet-derived growth factor D-chain expression by angiotensin II and hydrogen peroxide involves transcriptional regulation by Ets-1 and Sp1 [J]. *Blood*, 2006, 107: 2322-2329.
- [61] Benhamouche S, Curto M, Saotome I, Gladden A B, Liu C H, Giovannini M, et al. Nf2/Merlin controls progenitor homeostasis and tumorigenesis in the liver [J]. *Genes Dev*, 2010, 24: 1718-1730.
- [62] Sánchez A, Fabregat I. Growth factor- and cytokine-driven pathways governing liver stemness and differentiation [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16: 5148-5161.
- [63] Ji J, Yamashita T, Budhu A, Forgues M, Jia H L, Li C, et al. Identification of microRNA-181 by genome-wide screening as a critical player in EpCAM-positive hepatic cancer stem cells [J]. *Hepatology*, 2009, 50: 472-480.
- [64] Wang C, Yang W, Yan H X, Luo T, Zhang J, Tang L, et al. Hepatitis B virus X (HBx) induces tumorigenicity of hepatic progenitor cells in 3, 5-diethoxycarbonyl-1, 4-dihydrocollidine-treated HBx transgenic mice [J]. *Hepatology*, 2012, 55: 108-120.

[本文编辑] 魏学丽, 邓晓群