

中医药在干细胞治疗肝硬化中的应用

黄晶晶¹ 潘哲² 黄鸿娜¹ 王振常¹ 毛德文¹

(1 广西中医药大学第一附属医院 南宁 530023; 2 广西中医药大学 2011 级研究生 南宁 530023)

关键词: 干细胞; 肝硬化; 中医药; 综述

中图分类号: R572.2

文献标识码: A

doi:10.3969/j.issn.1671-4040.2013.06.069

肝硬化(hepatic cirrhosis)是一种由不同病因长期作用于肝脏引起的慢性、进行性、弥漫性肝病的终末阶段,是在肝细胞广泛坏死基础上产生肝脏纤维组织弥漫性增生,并形成再生结节和假小叶,导致肝小叶正常结构和血液供应遭到破坏。病变逐渐进展,晚期出现肝功能衰竭、门脉高压和多种并发症,死亡率高。病因多为病毒性肝炎、慢性酒精性肝病、非酒精性脂肪肝病、长期的胆汁淤积、药物或毒物、肝脏血液循环障碍、血吸虫病等。根据中医辨证论治特点,肝硬化属于中医的“胁痛”、“黄疸”、“积聚”和“臌胀”等病症范畴,主要分型也是根据临床症状而定,主要有肝气郁结证、气滞血瘀证、肝肾阴虚证等分型,治疗上中医药对抗肝纤维化取得很好的临床疗效,甚至能部分逆转肝硬化,改善患者预后,近年来随着新技术的发展在临床中的广泛使用。干细胞治疗肝病已取得一定的疗效,而且临床研究也证实了其安全性,本文就近年来中医药对干细胞的影响及其联合干细胞治疗肝硬化的进展方面进行述评。

1 干细胞的定义及主要分类

干细胞(stem cells, SC)是一类具有自我复制能力的多潜能细胞,在一定条件下,它可以分化成多种功能细胞。根据干细胞所处的发育阶段分为胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES 细胞)和成体干细胞(somatic stem cell); 根据干细胞的发育潜能分为三类:全能干细胞(totipotent stem cell, TSC)、多能干细胞和单能干细胞。目前应用于治疗肝病的干细胞主要分为肝源性干细胞和非肝源性干细胞。其中肝源性干细胞包括两类,其中卵圆细胞由 Kinoshita 于 1937 年发现,位于小叶间胆管和 Hering 管间;小肝细胞为直径 9~12 nm 的单核细胞,多在肝脏严重受损的情况下出现。Petersen 等^[1]于 1999 年首次报道大鼠骨髓中的某个细胞群体具有转化为卵圆细胞,并进一步分化为肝细胞和胆管上皮细胞的潜能。研究发现当肝脏发生严重损害,受损后肝细胞修复能力下降,抑制其再生功能,丢失大量肝细胞时,则出现肝卵圆细胞增殖,并分化为肝细胞和胆管细胞来

维持肝脏结构与功能的修复。在人类肝脏中,卵圆细胞数量的变化与肝脏受损成正比关系^[2]。非肝源性干细胞主要有骨髓干细胞及胚胎干细胞等,其中骨髓干细胞包括造血干细胞和骨髓间充质干细胞。上述干细胞都属高度未分化细胞,能向肝细胞分化,且来源充足,取材简单,来自自体一般无明显免疫排斥反应。干细胞肝脏移植技术治疗肝硬化的机制主要是在肝损害时干细胞分化为具有肝脏功能的肝细胞,补充减少的肝细胞,通过有效改善肝脏的组织学、肝内外微环境的影响使得肝内某种应激和炎症应用某些信号传导途径如:BMSCs 上调 TGFβ /Smad 信号传导通路的 TGFβ 1 和 Smad3 的表达促进骨髓干细胞向肝细胞的分化,或抑制肝纤维化^[3-5]。骨髓肝细胞通过分泌多种促肝细胞的生长因子,如肝细胞生长因子(HGF)、内皮细胞生长因子、表皮生长因子、白介素-4、白介素-10 等,可以促进肝脏血管新生、组织修复、抑制病毒细胞凋亡,还可以趋化外周血、骨髓干细胞迁徙至损伤部位进行修复^[6-7]。

2 干细胞与中医药

2.1 干细胞在中医理论中的研究 干细胞在中医理论中归属于“精”的范围,包括有先天之精如胚胎干细胞、造血干细胞等,后天之精如自身发育的肝卵圆细胞,骨髓干细胞等^[8-10]。多方研究^[11-14]补肾药可干预并且维持干细胞的数量和功能状态,最后并能诱导干细胞的定向分化,表明肾精与干细胞有一定的相关性,根据五行相生理论之“水生木”理论,能更好地治疗肝病。中医藏象理论中之“藏”与干细胞有着许多相似之处,都藏于体内,亦隐藏于内。功能上,干细胞为具有分化为多种功能细胞的潜能;病理上病入“藏”往往为难治症,而很多疾病如白血病就是遗传性干细胞疾病,其治疗难度及预后就会有折扣。根据干细胞的功能,干细胞归属中医“元气”范畴,元气由肾精所生,分布于全身,促进和调控全身各脏腑经络形体官窍的生理活动,干细胞以不同的细胞形态存在于正常组织,并能不断增生分化为组织细胞,修复损伤组织。

2.2 中药的研究与干细胞 我国中草药有上千年的历史,近些年通过中草药对干细胞的作用机制也取得一定的效果。中药诱导干细胞的多向分化的机制,主要有抗氧化、清除自由基等因素。中医药能有效提高干细胞的存活数量和质量主要是对宿主体质进行调整,适合干细胞移植,促进移植后干细胞诱导分化。张爱国等^[15]通过选择单味中药黄芪、丹参、淫羊藿和复方右归饮的煎剂采用不同浓度以及单味中药雪莲花的醇提液药物血清,研究其对体外培养的 MSCs 增殖的影响,根据药物血清 MTT 检测结果显示黄芪、丹参、淫羊藿不同的药物浓度在是否促进或抑制细胞增值方面具有相关性。现代药理研究雪莲花的主要成分具有抗自由基和提高免疫的作用,在适当的浓度能有效促进大鼠骨髓间充质干细胞体外培养增殖活性^[16-18],陈利锋等^[19]通过研究复方牛黄、西洋参(简称牛黄参)含药血清对大鼠肝干细胞系 WB-F344 增殖、分化的影响,用噻唑兰(MTT)比色法检测、Western blot 检测牛黄参含药血清成分组能刺激 WB-F344 细胞的增殖;HGFR、EGF、EGFR、TGF- β 1R、TGF- β 2R 的表达量升高对 WB-F344 细胞 ALB—mRNA 表达在分化过程中随着时间的延长逐渐增多,能有效抑制小鼠卵圆细胞系的有丝分裂,促进肝干细胞的增殖、分化,使其向成熟肝细胞和胆管细胞分化,且 ALB 上升恢复肝脏的合成^[20-21]。肝主藏血,肾主藏精,表现为精血同源,阴阳互滋互制,补肾益精中药促进肝细胞再生,李瀚旻等^[22-23]建立骨髓干细胞与肝细胞共培养体系,通过观察补肾药物对慢性乙型肝炎、肝硬化、肝癌患者血清的影响,结果发现左归丸等补肾药物能够促进干细胞形成肝细胞,增加白蛋白合成,并通过改善肝脏微环境,促进再生肝细胞加强抗病毒、抗肝损伤、抑制肝纤维化、抗肿瘤的协同作用。黄勇等^[24]通过研究“左归丸”不同配伍对骨髓源成体干细胞定向分化的调控作用表明,中药复方通过优化组合,不仅是对单一干细胞的调控,而是对一组干细胞有诱导分化作用。孔祥建^[25]通过对肝硬化及肝硬化失代偿期患者行自体骨髓干细胞移植结合并口服中药治疗,药物多以土鳖虫、大腹皮、三棱、槟榔、鸡内金、水蛭、虎杖、甘草、黄芪、丹参等活血、行气、祛瘀类,结果中药联合干细胞治疗组患者凝血功能恢复,症状改善明显。随着实验的深入,中药对干细胞向肝细胞诱导分化作用,为肝/干细胞的研究提供新思路,对肝病防治都具有重要意义。

2.3 干细胞与中医经络理论的研究 中医经络理论中经络是运行气血、联系脏腑和体表及全身各部

的通道,是人体功能的调控系统。针灸组织中干细胞的分布数量及定向干细胞的转化、内源性干细胞分子机制、干细胞作用机制和针灸对干细胞诱导分化、增殖过程的研究,现已作为经络理论研究重点^[26-28]。针灸治疗通过经络调整能加强患者免疫功能,对肝细胞再生有保护、修复作用。张红霞^[29]对 100 例肝硬化失代偿期进行自身骨髓干细胞肝移植病人进行分组,对照组予苦黄注射液、复方甘草酸苷注射液、还原型谷胱甘肽钠护肝;治疗组在对照组的基础上加用肝病治疗仪辅助治疗,取涌泉、合谷、肝俞、中脘、关元,合谷等穴,观察患者治疗前后的症状(乏力、腹胀等)、体征、凝血酶原活动度及肝功能、血清总胆红素、丙氨酸氨基转移酶等情况。结果显示治疗组改善优于对照组,表明肝病治疗仪施加多种不同形式的脉冲电场信号,使干细胞处于良好的细胞微环境中,更好地促进干细胞增长,改善肝脏微循环,加强新陈代谢,促进肝脏的恢复。未来干细胞研究和经络理论的有机结合,通过经络治疗作用以及干细胞移植后诱导分化调节机制,能更好研究经络理论本质。

3 中药联合干细胞治疗肝硬化的实验研究

肝硬化及肝硬化失代偿期多是慢性肝病病情较长者,多由于邪毒内伏,迁延不愈,涉及肝肾,伤精耗血。李兵顺^[30]采用黄芪联合促进肝细胞生长素能有效阻断和延缓抑制大鼠肝纤维化,表明中药中有促肝细胞生长因子。唐力军等^[31]对人骨髓细胞采用肝细胞生长因子、成纤维生长因子诱导下分化为肝细胞,扩大了肝细胞的来源,证明了干细胞在一定条件下可诱导分化为肝细胞的潜能。李瀚旻等^[32]研究表明左归丸对干细胞向肝细胞转化有一定的作用。石蕾等^[33]研究丹参对肝细胞生长因子- β 1 的调控,表明丹参能抑制肝纤维化。中药在一定程度上可以诱导干细胞向肝细胞转化,补充具有良好功能的肝细胞,修复受损的肝组织,较好地治疗肝硬化并延缓疾病的进展,

4 结语

干细胞治疗肝硬化研究的时间尚短,且联合中医药治疗的报道还比较少。我国是肝病高发区,每年肝硬化病人恶变为肝癌的数量也不断增加,有效治疗肝硬化避免其癌变就尤为重要。但是目前存在一些问题:关于肝细胞内外微环境中影响干细胞分化的主要因素研究目前还在起步阶段;干细胞肝移植的适应症没有统一的标准,造成种植后存活和定向分化的问题,目前机制研究还不明确;干细胞移植后是否会加重肝纤维化或抑制肝纤维化尚不清

与分化的影响[J].中国药物与临床,2007,7(5):329

[14]王和鸣,王力,李楠.巴戟天对骨髓基质细胞向成骨细胞分化影响的实验研究[J].福建中医学院学报,2004,14(3):16-20

[15]张爱国,蔡建平,谭湘陵,等.五种中药对体外培养的大鼠骨髓间充质干细胞增殖活性的作用[J].辽宁中医杂志,2012,39(1):158-161

[16]吴云刚,张志平.右归饮含药血清对人骨髓基质干细胞诱导为成骨细胞的影响[J].江西中医药,2006,37(7):57-58

[17]王新生,崔慧先,刘华,等.黄芪诱导骨髓间充质干细胞分化进程中细胞内钙离子浓度的动态变化[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,11(42):8 469-8 472

[18]王新生,李海峰,赵炎,等.黄芪诱导大鼠骨髓间充质干细胞分化早期胞内钙调蛋白 mRNA 的转录水平[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(23):4 495-4 499

[19]陈利锋,赵映前.中药复方调控肝干细胞分化及机制的实验研究[J].中国医药导报,2012,9(12):33-35

[20]李玲青,赵映前.牛黄参含药血清对人肝癌细胞 HepG2 的作用机理研究[D].武汉:湖北中医药大学,2010

[21]杨志云,姚树坤,殷飞,等.苦参碱含药血清对大鼠肝干细胞的影响[J].中华实验和临床感染病杂志(电子版),2008,2(2):33-38

[22]李瀚旻.论“补肾生髓成肝”治疗法则[J].中华中医药学刊,2012,30(5):937-940

[23]李瀚旻.基于骨髓干细胞与肝细胞共培养体系的左归丸血清药理学研究[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(19):3 527-3 532

[24]黄勇,黄秀深,胡一梅,等.“左归丸”配伍规律对骨髓源成体干细胞定向分化的调控作用[J].成都中医药大学学报,2010,33(1):48-52

[25]孔祥建.自体骨髓干细胞移植结合口服中药治疗慢性肝功能衰竭的研究[J].中国实用医药,2010,5(35):13-14

[26]龚圆渊,张力华.中药对骨髓间充质干细胞多向分化影响的研究进展[J].河南中医,2012, 32 (2):252-254

[27]王阶,张金生.关于干细胞研究对中医药理论发展的思考[J].中华中医药学刊,2007,25(6):1 093-1 094

[28]张建新.不同种类干细胞巢的有序分布构成中医经络系统[J].中国临床康复,2006,10(21):189-192

[29]张红霞.常规药物配合肝病治疗仪治疗自体骨髓干细胞移植后终末期肝硬化 100 例[J].河北中医,2011,33(4):530-531

[30]李兵顺.中药抑肝纤和促肝细胞生长素对大鼠免疫性肝纤维化的阻断作用[J].华人消化杂志,1998,6(9):786-788

[31]唐力军,高毅,张志,等.HGF+ FGF-4 体外定向诱导人骨髓来源的多能成体祖细胞向肝样细胞分化的特征性表型鉴定[J].解放军医学杂志,2004,29(11):973-976

[32]李瀚旻,高翔,晏雪生.左归丸粗提取物对骨髓干细胞转化肝细胞的影响[J].临床肝胆病杂志,2012,28(3):192-195

[33]石蕾,尹一然,李昌平.丹参为主的中药舒肝颗粒对活化大鼠肝星状细胞表达转化生长因子 β 1 的影响 [J]. 成都中医药大学学报,2012,35(2):37-42

[34]欧宏亮,王志荣.干细胞移植治疗肝硬化的研究进展[J].国际消化病杂志,2011,31(5):291-294

(收稿日期: 2013-03-22)

极干预措施,可提高干眼有效率,改善患者视力,值得各医院临床应用。

参考文献

[1]刘盛春,钟凌,杨敏.手术源性干眼的研究现状[J].华西医学,2010,10(9):1 773-1 775

[2]李森,张林.大鼠泪液缺乏型干眼症眼表组织中 IL-6 和 TNF- α 的表达[J].国际眼科杂志,2010,10(7):1 281-1 283

[3]胡艳波,尚宁,张立霞.老年干眼症的临床特征分析[A].世界中医药学会联合会第二届眼科年会中华中医药学会第十次中医中西医结合眼科学术大会论文汇编[C].2011

[4]刘黎明,王绍飞.角膜波面像差引导的准分子激光个体化屈光手术与 LASEK 术后干眼症发病率的对比研究 [J]. 临床眼科杂志,2010,18(2):164-166

(收稿日期: 2013-06-25)

楚;分离、提取的技术以及计数标准尚不统一;如何选择移植的治疗时间点和如何选择合适的移植方式,如脾内移植、通过介入或者 B 超行门脉或经肝内移植、外周静脉滴注移植、腹腔移植以达到最佳的移植治疗效果, 还需进一步循证医学的支持;不同干细胞治疗肝病还没有很多的数据,处于摸索阶段^[34]。中医中药在治疗肝纤维化上有很好的治疗效果,但是经过干细胞肝移植患者如何能提高疗效促进干细胞的分化成熟,为干细胞移植改善肝内环境等,都处在研究阶段;单味中药在其有效化学成分调控干细胞增殖与分化的化学物质,还停留在动物实验阶段, 复方制剂效果还未进入实质性研究;在中医药联合干细胞治疗肝硬化临床研究几乎空白。希望在实验研究疗效及安全性极高的前提下,加强中医药的临床研究,造福人类健康。

参考文献

[1]Petersen BE,Bowen WC,Patrene KD,et al.Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells[J].Science,1999,284(5 417):1 168-1 170

[2]陈积圣,商昌珍.应用肝干细胞治疗难治性肝病的进展[J].中国普通外科杂志,2007,16(3):269-271

[3]周伟,陈鹏飞,吴小翎,等.骨髓间充质干细胞对实验性肝纤维化大鼠的作用及其机制[J].中国生物制品学杂志,2012,25(2):176-180

[4]兰玲,陈源文,李定国.骨髓干细胞在肝纤维化治疗中的作用机制[J].世界华人消化杂志,2008,16(2):180-184

[5]Li C,Kong Y,Wang H,et al.Homing of bone marrow mesenchymal stem cells mediated by sphingosine 1-phosphate contributes to liver fibrosis[J].J Hepatol,2009,50(6):1 174

[6]具星爱,刘滋康,郭子宽.肝细胞生长因子基因修饰骨髓间充质干细胞[J].中外医疗,2012,31(4):29

[7]Valtieri M,Sorrentino A.The mesenchymal stromal cell contribution to homeostasis[J]. J Cell Physiol,2008,217:296-300

[8]李利清,张新光,虞坚尔.中医藏象精气与干细胞关系研究[J].环球中医药,2010,3 (1): 39-41

[9]刘柏炎,蔡光先.试论中医精气与干细胞生物学的关系[J].湖南中医学院学报,2003,23 (6):29

[10]张进,徐志伟,杜少辉,等.“精”学说与干细胞辨识[J].中医药理学,2004,22(7):1 198

[11]王康锋,张洪斌,张立娟.中医肾精理论与神经干细胞关系探讨[J].新中医,2005,37 (12):76

[12]黄晓芹,罗再琼.中医“肾精”与现代干细胞研究的同一性探讨[J].成都中医药大学学报,2012,35(2):5-9

[13]胡黎平,涂平生,谢富康,等.补肾方剂对大鼠骨髓基质干细胞增殖

(上接第 71 页)物冲洗干净,减少残留药液可能导致的角膜上皮损伤;在进行外眼手术时,选用干净卫生的棉片保护患者角膜,尽量减少其在外暴露的时间^[4]。且结膜切口的缝合应当对合整齐、无差错,及时进行消毒,以免感染。(3)术后对患者合理使用人工泪液,对出现的干眼病及时治疗,将损伤程度降至最低。

综上所述,手术源性干眼病因比较复杂,不仅与眼部手术有关, 也与术后对患者应用的药物有关;临床在行人工泪液的基础治疗前提下,采取积