文章编号:1000-5404(2011)09-0887-05

论著

骨髓来源细胞参与肝脏损伤的修复

李长珠[1*],梁光萍[2*],汤旭东[1],吴玉云[1],汪苏敏[1],赵晶京[1],房殿春[1],杨仕明[1] (400038 重庆,第三军医大学西南医院:全军消化病研究所[1],全军烧伤研究所[2])

【摘要】 目的 探讨小鼠骨髓来源干细胞(bone marrow stem cells, BMSCs)在体内分化为肝细胞的可行性及BMSCs是否参与肝功能受损的修复。**方法** 30只雌性C57BL/6小鼠全身一次性接受10 Gy ^{60}Co射线照射后,立即接受同品系雄性小鼠骨髓干细胞移植。移植后21 d后以CCl_4致骨髓嵌合小鼠肝功能受损,并于CCl_4致伤后第2、3、4、7、14、21、28天取骨髓嵌合小鼠肝脏,冰冻切片行Y染色体FISH和白蛋白(albumin,ALB)免疫荧光双标染色法,检测BMSC阳性细胞在受体小鼠肝内的分化情况,ELISA法检测肝脏基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor1,SDF-1)及其趋化因子受体(CXCR-4)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor,HGF)、干细胞因子(stem cell factor,SCF)的表达。**结果** 伤后2、3、4、7、14、21、28 d骨髓嵌合小鼠肝内皆可见FISH和ALB共表达的双阳性细胞,计数Y染色体FISH与ALB双阳性的细胞数量为3.763%~5.578%。ELISA法检测相关干细胞因子发现,在肝损伤后同一批次各时相点肝脏组织匀浆标本中SDF-1、CXCR-4、SCF、HGF 4种因子均呈现增高趋势,并在肝损伤第21天达到高峰表现,与其他时相点相比显著增加($P<0.05$),同FISH与ALB荧光双标记共表达计数结果一致。**结论** BMSCs可通过直接分化为肝细胞及分泌相关细胞因子间接促进受体肝脏干细胞增殖参与受损肝脏的修复。

【关键词】 骨髓来源干细胞;肝细胞;修复
【中图法分类号】 R329.2;R331.22;R575.02 **【文献标志码】** A

Bone marrow stem cells are involved in liver repair in mice

Li Changzhu[1], Liang Guangping[2], Tang Xudong[1], Wu Yuyun[1], Wang Sumin[1], Zhao Jingjing[1], Fang Dianchun[1], Yang Shiming[1] ([1]Institute of Gastroenterolgy, [2]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Burns, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the feasibility of bone marrow derived stem cells (bone marrow stem cells, BMSCs) differentiate into hepatocytes *in vivo*, in order to provide the theoretical basis for BMSCs participating in the repair of injuring liver. **Methods** After 30 female C57BL/6 mice received a whole body radiation of 10 Gy ^{60}Co, they were given bone marrow transplantation from the same strain male mice immediately. In 21 d after transplantation, these female mice received an intraperitoneal injection of carbon tetrachloride (CCl_4) to induce liver injury. Then their livers were removed for double fluorescence labeling of Y chromosome by FISH and albumin (ALB) by immunofluorescence at the 2nd, 3rd, 4th, 7th, 14th, 21st and 28th d after CCl_4 injection, which will indicate whether the BMSCs were differentiated to hepatocytes. Meanwhile, the liver content of several associated factors, such as stromal cell-derived factor1 (SDF-1) and its receptor CXCR-4, hepatocyte growth factor (HGF) and stem cell factor (SCF) were also detected by ELISA. **Results** Double positive cells, which co-expressed Y chromosome by FISH and Alb by immunofluorescence, were found from 2 to 28 d after after CCl_4 injury at a positive rate of 3.763% to 5.578%. Meanwhile, ELISA indicated that the liver contents of SDF-1, CXCR-4, SCF and HGF were increased gradually after injury with CCl_4 and reached the peak at the 21st day after CCl_4 injury ($P<0.05$, compared with those at other time points), which was consistent with the counting of double positive cells by FISH and immunofluorescence. **Conclusion** BMSCs may directly differentiate to live cells *in vivo* and/or indirectly promote original liver stem cells proliferation and differentiation by secreting cellular factors, and thus be involved in the repair of injuring liver. These results

【基金项目】 国家自然科学基金(30772252);创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室开放基金(SKLKF200923);第三军医大学临床创新基金(2009)
* 同等贡献者
【通信作者】 杨仕明,电话:(023)68765184,E-mail:shimingyang@yahoo.com

provide the evidence for BMSCs in the treatment of end stage liver disease.

[Key words] bone marrow stem cells; hepatocytes; liver; repair

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30772252), the Open Fund of State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury (SKLKF200923) and the Clinical Innovation Foundation of Third Military Medical University (2009). Li Changzhu and Liang Guangping are first authors who contributed equally to the article. Corresponding author: Yang Shiming, Tel: 86-23-68765184, E-mail: shimingyang@yahoo.com

近年来,随着对干细胞研究的深入,干细胞移植治疗终末期肝病逐渐成为研究的热点。终末期肝病(end stage liver disease, ESLD)是急性或慢性肝病的终末阶段,常伴有肝衰竭的临床表现。骨髓源性干细胞(bone marrow stem cell, BMSCs)是肝细胞的重要肝外来源。体外研究已证实骨髓干细胞在特定环境下可分化成肝细胞[1],体内研究表明大鼠骨髓细胞可以分化为肝实质细胞[2],但亦有研究认为骨髓源性干细胞不能在体内分化为有功能的肝细胞[3]。本实验通过骨髓嵌合小鼠模型,观察骨髓源性干细胞能否分化为有功能的肝实质细胞,旨在为使用自体骨髓干细胞治疗终末期肝病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

受体鼠:雌性C57BL/6,30只,体质量16~18 g,6周龄。供体鼠:雄性C57BL/6,15只,体质量16~18 g,6周龄。均购于第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心。清洁级动物房饲养,正常饮食、进水。

1.2 主要实验材料

主要试剂:starFISH(Cambio公司)CY3标记,一抗Alb抗体兔抗小鼠(Santa Cruz公司),二抗山羊抗兔FITC标记抗体(Invtrogen公司),抗荧光淬灭封片剂、细胞核荧光染料(DAPI)、FISH洗涤液、免疫染色固定液、免疫染色洗涤液、正常山羊血清封闭液(浙江碧云天生物技术研究所),pH 7.0胃蛋白酶、pH 7.0甘氨酸,去离子甲酰胺(上海生工生物技术公司),CCl_4(分析纯,山东淄博天德精细化工研究所),鲁花一级压榨花生油;主要仪器:杂交仪、激光共聚焦显微镜(德国徕伟公司),低温高速离心机(美国贝克曼)。荧光双标记完成后在激光共聚焦显微镜下观察同一视野下Y染色体FISH与白蛋白(ALB)两种荧光共表达情况。

1.3 照射

受体雌性小鼠接受^{60}Co γ射线一次性全身均匀照射,吸收剂量:10 Gy,距离:152 cm,高度:110 cm。

1.4 BMSCs细胞的获取及移植

供体雄性小鼠超净台上断颈处死后,取股骨、髂骨,去除肌肉及软组织,剪开骨髓腔,用一次性2 ml无菌注射器吸取α-MEM培养基反复冲洗骨髓腔,直至髓腔为无色透明。收集冲洗液于无菌小烧杯中,并使用400目筛网过滤,以去除混于细胞中的结缔组织等多余杂质后,将冲洗液收集于10 ml离心管中,1 200 r/min离心8 min。去掉上清液,加红细胞裂解液2 ml吹打成单细胞悬液,于37 ℃水浴锅中静置5 min,后加入α-MEM终止裂解,1 200 r/min离心8 min。去掉上清液,加α-MEM 12 ml吹打成单细胞悬液。血球计数板计数,细胞悬液为2.6×10^7/ml。照射后4 h内受体小鼠尾静脉注射获取的细胞悬液,0.4 ml/只。受体鼠于清洁级动物房饲养,使其恢复21 d。

1.5 染色体核型分析

取受体鼠骨髓血抽提细胞进行细胞培养,细胞培养好后加入30 μl秋水仙素(20 μg/ml)继续培养1.5 h,用吸管将细胞吹打下来,2 300 r/min,离心6 min,去上清,轻弹悬浮细胞,加入5 ml 0.075 mol/L的氯化钾,37 ℃低渗处理15 min,加入0.5 ml固定液,2 300 r/min,离心6 min,去上清,轻弹悬浮细胞,重复加入固定液并离心3次后,加入5 ml固定液,室温放置2~3 h后,2 300 r/min,离心6 min,去上清,轻弹悬浮细胞,用吸管滴加约0.5 ml固定液,气泡混匀,滴片3张,70 ℃烤2.5 h。G显带:显微镜下观察染色体。G显带步骤:将生理盐水于37 ℃预温30 min,加入33 mg/ml胰酶1支;充分吹打混匀,然后将烤好的玻片放入生理盐水中32 s,迅速取出,用预温的生理盐水洗2~3次,置于玻片架上用吉姆萨染色液染色6 min(吉姆萨原液:蒸馏水1:10配置),染色后用蒸馏水将吉姆萨染液冲洗干净,晾干后观察。核型排列参照国际小鼠标准核型[4]。

1.6 CCl_4法建立急性肝损伤模型

按文献报道制备CCl_4肝损伤模型[5]。将CCl_4 0.1 ml溶于纯花生油33.33 ml中,配制成浓度为0.3% CCl_4油剂溶液,并使用磁力悬浮搅拌器搅拌约4 h,使二者充分混合,受体鼠腹腔注射,0.4 ml/只。

1.7 Y染色体FISH和ALB免疫荧光双标记染色

分别在肝脏损伤模型建立后的第2、3、4、7、14、21、28天,取肝脏标本,部分做冰冻切片,部分行肝脏组织匀浆。冰冻切片行Y染色体FISH+ALB免疫荧光双标记染色。Y染色体FISH检测与ALB免疫荧光双标记方法按说明书及文献[6-7]进行。为使能在同一张冰冻切片上观察到红色的FISH荧光及绿色的白蛋白荧光,我们在相关文献的基础上进行了如下改进:为使ALB抗体的结合位点在进行FISH染色时不被破坏掉,所以在FISH染色之前需先行ALB的一抗孵育,并过夜。第2天进行FISH染色,使用8%硫氰酸钠作为DNA染色体发生解链变性的加热溶液,同时使用胃蛋白酶做进一步的消化,但消化时间严格控制在30 min之内,否则组织标本容易出现脱片现象。第3天在把FISH染色全部完成后,需重新进行ALB的免疫荧光染色的全过程,但是一抗要在37 ℃下孵育4 h后再进行二抗的孵育。激光共聚焦显微镜检测红色荧光Cy3激发光波长552 nm,检测绿色荧光FITC激发光波长495 nm。

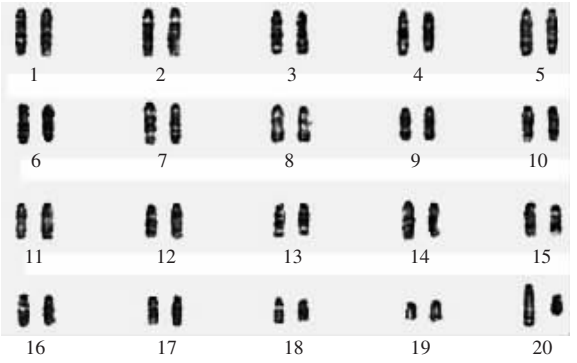
1.8 相关因子的ELISA检测

肝组织取下并部分匀浆后,送公司(上海西塘生物公司)行基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor1, SDF-1)及其趋化因子受体(CXCR-4)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)和干细胞因子(stem cell factor, SCF)的ELISA检测。

2 结果

2.1 骨髓嵌合小鼠血型转换的研究

雌性 C57BL/6 小鼠经^{60}Co 照射后，立即行同系雄性小鼠骨髓移植，21 d 后，取嵌合小鼠外周血细胞行染色体核型分析，发现雌性小鼠血型呈 XY 型（图 1），提示嵌合小鼠发生血型转换，可以进行下一步的研究。

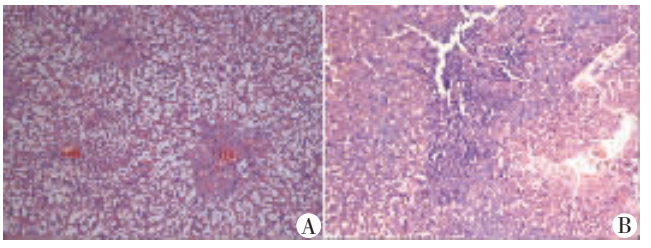


1－19：C57BL/6 雌雄小鼠共有相同染色体；20：雄性小鼠特有的 Y 染色体

图 1　骨髓嵌合小鼠染色体核型分析

2.2 CCl_4 致骨髓嵌合小鼠急性肝损伤的研究

0.3% CCl_4 油剂溶液于骨髓嵌合小鼠腹腔内注射 2、3、4、7 d，取肝脏，行 HE 染色，发现 CCl_4 可以导致骨髓嵌合小鼠肝脏的急性损伤，表现为肝细胞大片变性、坏死，在汇管区有大片的肝细胞坏死。见图 2。



A：肝细胞气球样变性及大面积脂肪变性；B：肝细胞大面积坏死

图 2　CCl_4 导致 C57BL/6 小鼠肝损伤的病理学观察（HE ×400）

2.3 双荧光标记检测 BMSCs 在肝损伤修复中的作用

骨髓嵌合小鼠于 CCl_4 致伤后的 2、3、4、7、14、21、28 d 取肝脏行冰冻切片，进行 Y 染色体 FISH 染色及 ALB 免疫荧光双标记染色，然后在激光共聚焦显微镜下观察呈红色荧光的 Cy3 标记的 BMSCs 来源的 Y 染色体以及呈绿色荧光的 ALB，可见不同损伤时相点的肝组织冰冻切片中 Y 染色体 FISH 阳性、ALB 阳性。进一步在激光共聚焦显微镜下对不用时相点的双标记冰冻切片随机连续拍照 10 次，分别对 FISH 阳性和 FISH + ALB 双阳性的细胞进行计数。伤后 2、3、4、7、14、21、28 d 骨髓嵌合小鼠肝内皆可见 FISH 阳性的 BMSCs 归巢至肝损伤部位，亦可见到 FISH 和 ALB 共表达的双阳性细胞，计数 FISH 与 ALB 双阳性的细胞数量为 3.763% ~5.578%。见图 3、4。

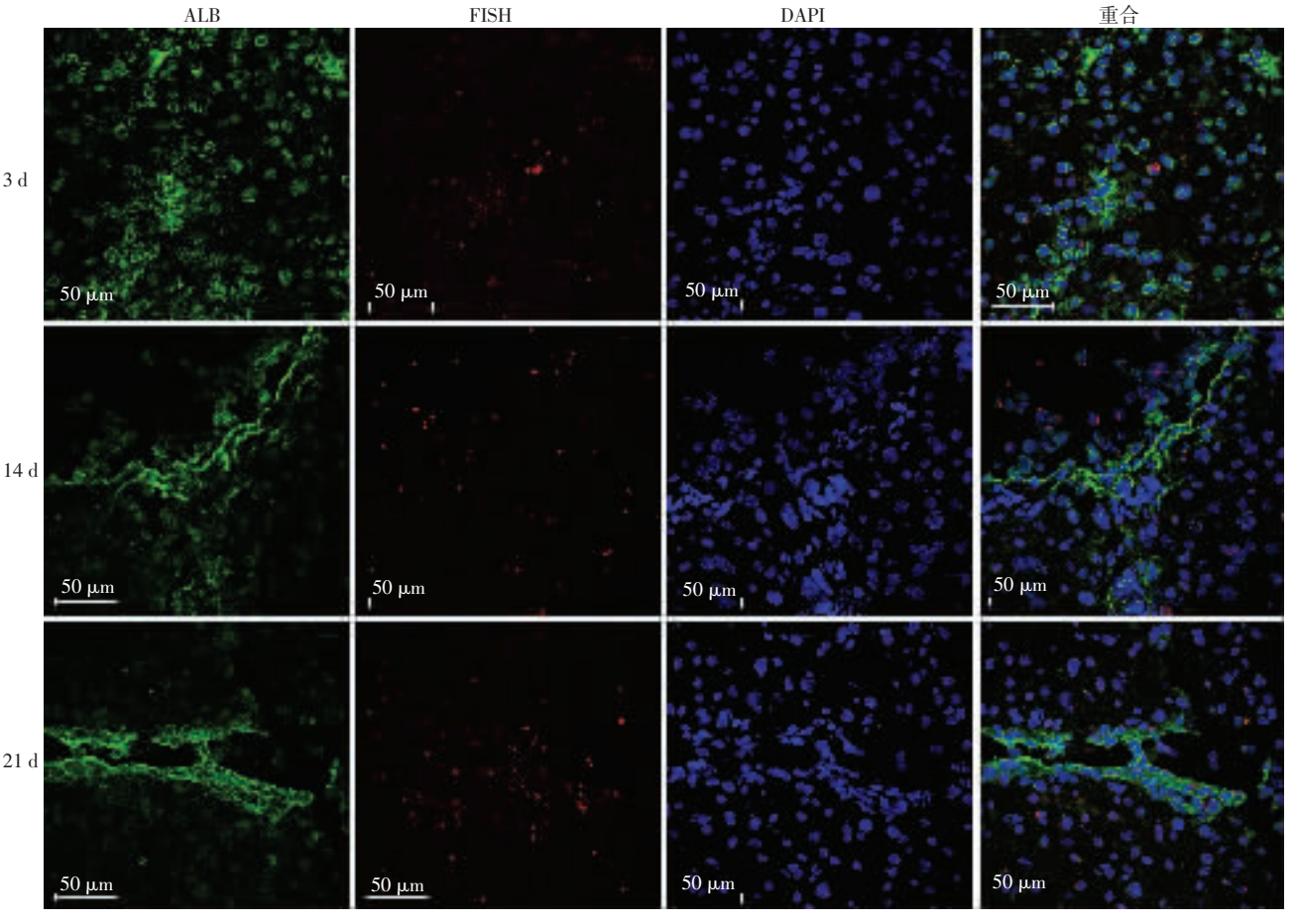


图 3　激光共聚焦显微镜下观察骨髓嵌合小鼠于 CCl_4 致伤后 3、14、21 d 肝脏冰冻中 FISH 与 ALB 的共表达（免疫荧光双标记染色）

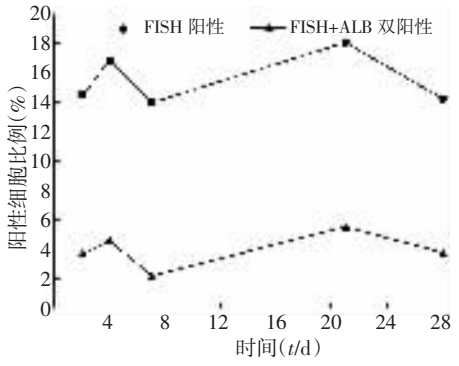
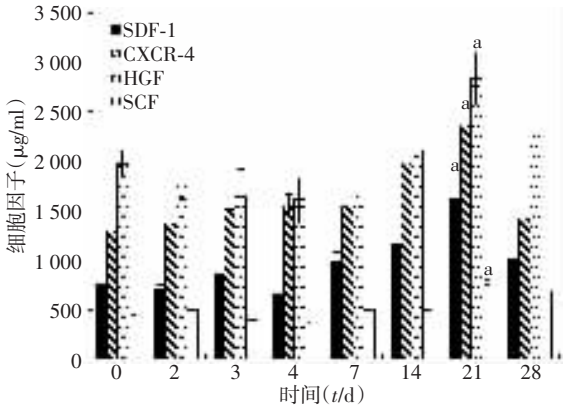


图4 肝损伤后不同时间Y染色体FISH与ALB双阳性BMSCs计数结果

2.4 ELISA检测BMSCs分化为肝细胞的相关因子检测

使用ELISA方法检测出在肝损伤后，BMSCs分化为肝细胞在肝组织匀浆标本中相关因子的检测结果，可以看出在各不同时相点的检测中，4种因子均在肝损伤第21天时达到高峰，与移植后肝损伤0、2、3、4、7、14 d和28 d相比有显著差异（$P<0.05$，图5）。



a：$P<0.05$，与其他时间点对应细胞因子比较

图5 ELISA检测肝损伤后不同时间BMSCs相关干细胞因子SDF-1、CXCR-4、HGF、SCF的水平

3 讨论

传统治疗终末期肝病的方法有限且死亡率高。肝移植（liver transplantation）是目前最有效的治疗方法，但存在供体肝缺乏、移植后免疫排斥反应及高额治疗费用等问题而难以普遍开展。国内外大量研究表明干细胞治疗能有效的改善受损肝脏功能，在肝损伤及肝细胞再生过程中，干细胞具有重要作用。因此，干细胞移植以其特有的优势，给终末期肝病的治疗带来了可喜的前景[8-9]。

目前，骨髓干细胞已在动物实验和临床应用中有了重要的进展，在骨损伤、心脏疾病、肝损伤、脊髓损伤等方面都有突破[10-13]。Terai等[14]在小鼠实验中发现，GFP标记的骨髓干细胞定植于CCl_4损伤的肝脏，分化为能分泌白蛋白的肝细胞，血清白蛋白水平升高，提高生存率。Abdel-Aziz等[15]通过尾静脉移植干细胞入CCl_4制作的肝硬化大鼠体内，通过检测血清ALT及白蛋白水平评价肝功能。研究发现，干细胞可定植于受体的肝脏，血清白蛋白水平明显升高，而ALT改善不明显。但也有人认为BMSCs定位于肝脏后并不是分化为肝实质细胞而是分化为间质细胞。通过追踪骨髓来源细胞在肝脏的分化情况，发现移植BMSCs后的硬变肝脏中，大部分的BMSCs转化为肌纤维母细胞[16]。本研究采用雄性小鼠BMSCs为示踪的骨髓嵌合模型小鼠，利用Y染色体作为标志物，通过荧光标记的原位杂交技术进行追踪，能清楚地观察到被标记细胞，使之更直观地观察骨髓干细胞在小鼠体内的分布和分化情况，适合体内试验定量分析[17]。白蛋白是最常用和可靠的肝细胞功能的检测标志，主要由肝细胞合成分泌，其他组织细胞分泌极少，合成与分泌白蛋白能力是检测肝细胞活性与功能的一个重要指标。本实验利用性别错配模型（gender-mismatched model）将雄性供体动物细胞移植到雌性动物体内，通过Y染色体原位杂交技术确认移植细胞[18]，然后再进行ALB免疫荧光染色，使用双标记方法检测骨髓嵌合鼠肝脏内BMSCs阳性细胞的趋化及表达ALB的能力，确定BMSCs可以转分化为有功能的肝细胞。为证明BMSCs可以向肝细胞分化，本实验观察了移植模型肝损伤后2、3、4、7、14、21、28 d骨髓嵌合小鼠肝脏中供体来源的BMSCs的分布，结果显示：受体鼠肝损伤后2、3、4、7、14、21、28 d肝脏冰冻切片均能检测出来自BMSCs中的Y染色体，亦出现FISH与ALB免疫荧光染色双标记的共表达情况。结果表明，21 d时阳性细胞最多细胞，阳性主要集中于小血管周围。说明部分骨髓来源的细胞能定位于活体肝脏并分泌具有表达肝脏活性的特异性白蛋白。CXCR-4是SDF-1的特异性受体，SDF-1/CXCR-4轴能够影响干细胞的整个归巢过程[19-20]。Jung等[21]将同种BMSCs移植到CCl_4诱导的小鼠肝损伤模型内，发现植入的BMSCs特异性地迁移到受损肝组织，流式细胞计数仪检测发现损伤肝组织内CXCR-4和SDF-1的表达增加，证明SDF-1/CXCR-4的相互作用对移植的干细胞定位到受损肝组织起到了关键作用。本实验使用ELISA方法检测了肝损伤组织中SDF-1与CXCR-4的表达情况，并通过Y染色体FISH与ALB免疫荧光双标记实验证实Y染色体阳性的骨髓来源细胞可以趋化到受损的肝脏区域，而且能转分化为具有活性的可分泌特异性ALB的肝实质细胞。

计数Y染色体FISH与ALB共表达于同一细胞的

结果表明,由骨髓来源细胞转分化的细胞数量为3% ~ 5%,分化细胞数量较少。研究表明,外源性BMSCs在肝脏损伤时可分泌肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor,HGF)与干细胞生长因子(stem cell factor,SCF)等多种因子,从而促进损伤肝组织修复[22-23],其中以HGF与SCF作用最为重要[24]。因此本实验收集了实验鼠各时相点的肝脏匀浆标本,对肝组织中的HGF与SCF含量进行了ELISA检测,结果表明,在移植后各时相点的HGF与SCF均呈现不同程度的增高,并同时在肝损伤第21天时达到高峰。这一结果与临床上使用干细胞治疗肝硬化的疗效结果相一致,即随治疗时间的延长,在一定时期内肝脏白蛋白与总蛋白含量均有不同程度的增高。提示在肝损伤时,外源性BMSCs通过释放HGF、SCF等细胞因子刺激肝脏原位干细胞的增殖分化,从而实现对受损肝脏的修复作用。

综上所述,在肝损伤时,骨髓来源细胞对肝脏的修复存在两种途径:一为直接转分化,即由骨髓来源的细胞在损伤因素的刺激下,通过SDF-1/CXCR-4轴的趋化作用归巢至损伤部位,直接转分化为具有活性的肝实质细胞;另一方面,趋化至损伤肝脏的骨髓来源细胞通过分泌HGF、SCF等相关因子,促进肝脏原位干细胞增殖分化,参与损伤肝脏的修复。以上研究为骨髓干细胞治疗终末期肝病提供了理论依据。

参考文献:

[1] Tao X R, Li W L, Su J, *et al*. Clonal mesenchymal stem cells derived from human bone marrow can differentiate into hepatocyte-like cells in injured livers of SCID mice[J]. J Cell Biochem, 2009, 108(3): 693-704.

[2] Petersen B E, Bowen W C, Patrene K D, *et al*. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells[J]. Science, 1999, 284 (5417): 1168-1170.

[3] Kanazawa Y, Verma I M. Little evidence of bone marrow-derived hepatocytes in the replacement of injured liver [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(Suppl 1): 11850-11853.

[4] Buckland R A, Evans H J, Sumner A T. Identifying mouse chromosomes with the ASG technique[J]. Exp Cell Res, 1971, 69(1): 231-236.

[5] 张旻,唐晓鹏,李代强,等. CCl_4致SD大鼠急性肝损伤模型制作的改进[J]. 中国现代医学杂志, 2004, 14(17): 40-44.

[6] Sato Y, Araki H, Kato J, *et al*. Human mesenchymal stem cells xenografted directly to rat liver are differentiated into human hepatocytes without fusion[J]. Blood, 2005, 106(2): 756-763.

[7] 邹西峰,苏玉金,鲁玲玲,等. 小鼠Y染色体RNA探针的标记和应用[J]. 解剖学报, 2004, 35(6): 664-667.

[8] am-Esch J S 2nd, Knoefel W T, Klein M, *et al*. Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: a novel concept to support hepatic regeneration[J]. Stem Cells, 2005, 23(4): 463-470.

[9] Wollert K C, Meyer G P, Lotz J, *et al*. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial[J]. Lancet, 2004, 364(9429): 141-148.

[10] Cho K A, Ju S Y, Cho S J, *et al*. Mesenchymal stem cells showed the highest potential for the regeneration of injured liver tissue compared with other subpopulations of the bone marrow[J]. Cell Biol Int, 2009, 33(7): 772-777.

[11] Lasala G P, Minguell J J. Bone marrow-derived stem/progenitor cells: their use in clinical studies for the treatment of myocardial infarction [J]. Heart Lung Circ, 2009, 18(3): 171-180.

[12] Dharmasaroja P. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells for the treatment of ischemic stroke[J]. J Clin Neurosci, 2009, 16(1): 12-20.

[13] Chernykh E R, Stupak V V, Muradov G M, *et al*. Application of autologous bone marrow stem cells in the therapy of spinal cord injury patients[J]. Bull Exp Biol Med, 2007, 143(4): 543-547.

[14] Terai S, Sakaida I, Nishina H, *et al*. Lesson from the GFP/CCl_4 model--translational research project: the development of cell therapy using autologous bone marrow cells in patients with liver cirrhosis[J]. J Hepatobiliary Pancreat Surg, 2005, 12(3): 203-207.

[15] Abdel-Aziz M T, Atta H M, Mahfouz S, *et al*. Therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on experimental liver fibrosis [J]. Clin Biochem, 2007, 40(12): 893-899.

[16] Russo F P, Alison M R, Bigger B W, *et al*. The bone marrow functionally contributes to liver fibrosis [J]. Gastroenterology, 2006, 130 (6): 1807-1821.

[17] Abdel-Aziz M T, El-Asmar M F, Haidara M, *et al*. Effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on cardiovascular complications in diabetic rats[J]. Med Sci Monit, 2008, 14(11): BR249-BR255.

[18] Urban V S, Kiss J, Kovacs J, *et al*. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes [J]. Stem Cell, 2008, 26(1): 244-253.

[19] 王连友,徐辉,董世武,等. 异体骨髓间充质干细胞在骨髓嵌合小鼠体内分化为肝细胞的实验研究[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(11): 993-995.

[20] Chen F, Chen S, Tao K, *et al*. Marrow-derived osteoblasts seeded into porous natural coral to prefabricate a vascularised bone graft in the shape of a human mandibular ramus: experimental study in rabbits [J]. Br J Oral Maxillofac Surg, 2004, 42(6): 532-537.

[21] Jung Y J, Ryu K H, Cho S J, *et al*. Syngenic bone marrow cells restore hepatic function in carbon tetrachloride-induced mouse liver injury[J]. Stem Cells Dev, 2006, 15(5): 687-695.

[22] Spaggiari G M, Capobianco A, Abdelrazik H, *et al*. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2, 3- dioxygenase and prostaglandin E2[J]. Blood, 2008, 111(3): 1327-1333.

[23] Kiss J, Urban V S, Dudics V, *et al*. Mesenchymal stem cells and the immune system--immunosuppression without drugs? [J]. Orv Hetil, 2008, 149(8): 339-346.

[24] Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, *et al*. Rapid hepatic fate specification of adipose-derived stem cells and their therapeutic potential for liver failure[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2009, 24(1): 70-77.

(收稿:2011-01-04 修回:2011-02-10)

(编辑 龙 亮)