综 述

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000910

肝窦内皮细胞对肝纤维化影响及其调控机制的研究进展

李树民[1]，黎桂玉[1]，彭 岳[2]，赵铁建[2]

（广西中医药大学 1. 研究生学院；2. 基础医学院生理学教研室，南宁 530001）

【摘要】肝窦内皮细胞（liver sinusoidal endothelial cells，LSEC）是肝血窦内一种高度分化的细胞类型，它在肝纤维化的发生、发展中具有重要作用，LSEC 功能障碍被认定是多种肝脏疾病的关键因素。目前国内外关于肝纤维化研究主要集中在抑制肝星状细胞（hepatic stellate cells，HSC）活化和加速细胞外基质（extracellular matrix，ECM）水解上，而对 LSEC 结构和功能在肝纤维化中的作用研究较少。本文就肝纤维化发展中 LSEC 通过其独特的结构、分泌相关细胞因子和调控 HSC 的活化等参与肝纤维化过程的研究成果进行总结，综述了近年来关于 LSEC 对肝纤维化影响及其调控机制的研究进展。

【关键词】肝窦内皮细胞；肝纤维化；肝窦毛细血管化

【中图分类号】R392 【文献标志码】A 【收稿日期】2015-09-28

Effect of liver sinusoidal endothelial cells on hepatic fibrosis and its mechanism

Li Shumin[1], Li Guiyu[1], Peng Yue[2], Zhao Tiejian[2]

(1. Graduate School; 2. Teaching and Research Section of Physiology, School of Basic Medicine, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine)

【Abstract】Liver sinusoidal endothelial cell (LSEC) is a highly differentiated cell type in the liver blood sinus. It plays an important role in the development of liver fibrosis. LSEC dysfunction has been considered as a key event in multiple liver disorders. At present, the studies on hepatic fibrosis in the domesticand abroad are mainly focused on the inhibition of hepatic stellate cell (HSC) activation and accelerating the hydrolysis of extracellular matrix (ECM), and the role of LSEC structure and function in liver fibrosis is seldom studied. In this paper, we summarize the research progress of LSEC in the development of hepatic fibrosis, and the research progress of LSEC on hepatic fibrosis in recent years.

【Key words】liver sinusoidal endothelial cells; liver fibrosis; capillarization

肝血窦是血液与肝细胞进行物质交换的屏障，是最重要和通透性最大的物质交换结构之一；肝窦内皮细胞（liver sinusoidal endothelial cells，LSEC）是构成肝血窦的主要细胞，其最具特性的结构是窗孔和基底膜，窗孔在血液与肝细胞的物质交换过程中发挥筛选屏障作用[1]。在肝纤维化的病理情况下，LSEC 与肝细胞之间出现连续性基膜，并伴有窗孔的消失和肝星状细胞（hepatic stellate cells，HSC）的活化，这些改变称“肝窦毛细血管化”[2-3]。研究发现[4-6]，LSEC 在 HSC 的活化和肝纤维化进程中具有重要的作用，正常分化的 LSEC 能够促使活化的 HSC 逆转至平静状态，有效地防止肝纤维化的发展，当 LSEC 停止分化或者出现肝窦毛细血管化时，HSC 的激活效应会得到允许。当发生肝纤维化、肝损伤时，LSEC 变成一种高效的促炎症因子，并且分泌一系列的细胞因子和趋化因子，介导肝脏炎症反应加速和肝脏免疫功能改变[7-8]。肝纤维化后 LSEC 损伤可导致分泌行为和细胞表型的改变：一方面通过窗孔数量及直径的变化调节肝脏微循环；另一方面分泌多种活性物质和其他产物[9]。研究者对 LSEC 的结构和功能不断深入研究，针对 LSEC 结构和功能的研究将成为干预肝纤维化的又一个新的热点，本文结合近几年来国内外相关 LSEC 的研究进展，就 LSEC 的结构和功能在肝纤维化中的重要作用作一评述。

作者介绍：李树民，Email：lishumin609@163.com，研究方向：中草药抗肝纤维化研究。

通信作者：赵铁建，Email：ztj-nanning@163.com。

基金项目：国家自然科学基金资助项目（编号：81160553、81260675）；广西科学研究与技术开发计划基金资助项目（编号：桂科攻 13349005）；广西研究生教育创新计划基金资助项目（编号：JGY2014082）。

优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160331.1519.014.html（2016-03-31）

1 肝窦内皮细胞结构调控作用对肝纤维化形成的影响

LSEC位于肝脏的 Disse 间隙内，正常情况下处于静止状态；在肝纤维化形成过程中，可激活相应的免疫机制，导致 LSEC 由静止状态变为激活状态和 LSEC 的结构变化，从而引起一系列的病理生理变化[10]。LSEC 有着独特且复杂的结构，根据其在肝纤维化形成中的结构作用不同，主要分为两部分：窗孔和基底膜[11]。

1.1 窗孔结构在肝纤维化发生发展过程中的作用

上世纪 70 年代，研究者利用透射电子显微镜发现 LSEC 呈筛孔状结构，内皮细胞胞质不连续，有很多通过膜结合的细胞质孔，成为窗孔，窗孔多则构成肝筛，肝筛在 LSEC 内皮表面积占 6%~8%[9,12]。LSEC 在形态上相比其它内皮细胞具有独特的结构，它在哺乳动物内皮细胞中是唯一一种存在没有隔膜的窗孔[13]。

窗孔作为 LSEC 重要的形态结构，在血液和肝脏实质细胞之间的物质交换中发挥筛选屏障作用[14-16]：①研究发现直径小于窗孔的乳糜微粒残留物可以通过内皮衬里进入Disse 间隙，而直径大于窗孔的乳糜微粒无法通过内皮衬里进入 Disse 间隙[17-18]。②窗孔能够调节 LSEC 的渗透性，有利于LSEC 从血液中摄取物质和排除分泌物[19]。③窗孔也是一种动态生物滤过器，内毒素、酒精等因素能使窗孔变小或消失[20]。鱼类，鸟类和哺乳类（的肝脏也）都存在窗孔，其窗孔的数量和直径都不一样，但它们都有一个共同的特点：丛生聚集形成了肝筛结构。

肝纤维化时 LSEC 窗孔数减少或消失，内皮下连续基底膜的形成，造成肝窦毛细血管化，这是肝窦毛细血管化最主要的两个特征[21]。对肝纤维化大鼠的研究表明，LSEC 失窗孔化先于肝纤维化，并且在去除肝毒素后 LSEC 的失窗孔化可以发生逆转，但在内皮基底膜形成后则不可逆[22]。

1.2 基底膜在肝纤维化发生、发展过程中的作用

人和大多数哺乳动物的 LSEC 内皮下无完整基底膜，只分布着散在的网状纤维，这有利于肝窦内物质的交换。黄月红等[23] 研究发现在肝纤维化早期大鼠局部肝组织可形成典型肝窦毛细血管化的改变，且肝窦壁上层黏连蛋白（laminin，LN）的沉积是肝窦毛细血管化连续基底膜形成的关键因素。肝纤维化时内皮下连续基底膜形成，造成肝窦毛细血管化和肝脏微循环受损，不利于肝细胞从血液中摄取营养物质及排除分泌物[24]。

2 肝窦内皮细胞分泌功能对肝纤维化形成的影响

LSEC 具有多种分泌功能：①分泌血管活性物质。如内皮素-1（endothelin，ET-1）、血管内皮细胞生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）、结缔组织生长因子（connective tissue growth factor，CTGF）和一氧化氮（NO）等对肝内微循环有调节作用，尤其是 ET-1 的血管收缩作用与门脉高压有关系。②分泌大量的与基底膜形成必需的成分，如Ⅳ型胶原（collagen type Ⅳ，ColⅣ）、LN、基底膜蛋白多糖（Perlecan）等，参与LSEC 基底膜的形成和肝窦毛细血管化的生成。

2.1 ET-1

ET-1 是内皮素家族的 3 种多肽之一，是目前所知血管收缩作用最强的生物肽，在肝脏内环境稳态中起着重要作用[25]。ET-1 作为一种旁分泌因子，其诱导分泌的 NO 对肝血窦中血流量的调节具有重要作用；肝损伤模型中 LSEC 源性 ET-1前 mRNA 含量可增加 60%。LSEC 源性 ET-1 能显著促进 HSC 中 SMA 的表达及胶原合成，并参与肝窦血流的调节和对HSC 的活化[26]。

2.2 VEGF

VEGF 是一种分泌性糖蛋白，在肝脏主要由肝细胞分泌，其次是 LSEC、贮脂细胞等[27]；其主要功能是选择性诱导内皮细胞增殖、提高血管通透性以及改变细胞外基质（extracellular matrix，ECM）成分等[28]。肝损伤时 VEGF 诱导新生毛细血管形成，造成连续性基底膜形成和肝内微循环改变。同时，肝内微循环障碍，又导致肝细胞缺血缺氧，加速诱导 VEGF 分泌，VEGF 可增加血管通透性，引发局部有效循环血量下降，加重肝缺血缺氧，再刺激 VEGF 大量产生，形成恶性循环[29]。

2.3 CTGF

CTGF 是分泌型生长因子，肝内的 CTGF 的主要来源是由 HSC、成纤维细胞和 LSEC 分泌。与 ECM 异常代谢密切相关，是一重要的促组织纤维化因子，CTGF 对 ECM 发挥着重要的调节作用，具有特异性的促组织纤维化效应[30-31]。

ColⅣ、LN、Perlecan 为肝窦壁基底膜形成的必需成分，其合成和分泌的增加，共同沉积于肝窦壁导致连续性基底膜形成和肝内微循环改变[32]。研究显示[33]，门脉压力升高与肝窦壁 LN 表达量呈显著正相关，表明 LN 在肝窦基底膜形成和门脉高压形成中具有重要意义。Perlecan 作为硫酸肝素蛋白多糖家族的一员与多种疾病的发生密切相关。现已发现 Perlecan 有多种功能，包括细胞信号转导、调节生长因子、维持基底膜形态等，是血管化基底膜的主要组成部分[34]。

3 肝窦内皮细胞对肝纤维化时肝星状细胞的调控

肝纤维化是由于肝细胞受损后引起多种细胞因子分泌，并激活 HSC，HSC 活化后分泌大量 ECM，ECM 是由基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinase，MMPs）进行水解；当 ECM 的生成增多（HSC 激活过度）或降解减少（MMPs 活性降低）时，导致 ECM 发生过度沉积，引起肝内各种胶原弥漫性沉积、基底膜网状支架破坏和肝窦毛细血管化，致使肝纤维化形成和发展[35]。肝纤维化是在各种致病因子的作用下引起的慢性肝

损伤，也是大多数慢性肝病所共有的病理特征，随着肝组织的持续损伤，肝纤维化可进一步发展为肝硬化，最终变成肝癌[36]。

3.1 HSC 与肝纤维化的关系

肝纤维化是由于 ECM 的沉积和降解失去平衡所造成的，而 ECM 主要来源于 HSC[37]。研究表明，HSC 的激活与增殖是形成肝纤维化的中心环节，因此，抑制 HSC 的激活或诱导活化的 HSC 凋亡，减少增殖，已作为抗肝纤维化的关键步骤。

3.2 LSEC 能够预防 HSC 的活化

DeLeve 等[6]研究表明，当 HSC 单独在塑料装置中培养时，能够触发激活状态；而当 HSC 与分化的 LSEC 共同培养时，在 LSEC 的存在下能够维持 HSC 的稳定；进一步研究发现当肝窦出现毛细血管化时，LSEC 与 HSC 共培养时，HSC 活化的速率与 HSC 单独培养时活化速率相同。这就表明当出现“肝窦毛细血管化”时，LSEC 不能阻止 HSC 的活化和促进分化 HSC 回复到平静状态，然而到目前为止，这个介质尚未确定[38]。

3.3 LSEC 能够使活化的 HSC 发生逆转

研究发现，当分化的 LSEC 加入到已经被激活的 HSC 培养基中，分化的 LSEC 能够充当于可溶性鸟甘酸环化酶激活剂，加速肝窦毛细血管化的逆转，促使活化的 HSC 回归到平静状态，从而影响肝纤维化的进程；而当肝窦出现毛细血管化时，LSEC 就不能促使活化的 HSC 回复到平静状态[39]。

3.4 “肝窦毛细血管化”时 LSEC 对 HSC 的调控作用

正常肝脏中 LSEC 是一种新的抗原提呈细胞，表现为免疫耐受；在肝纤维化中，LSEC 表现为免疫应答并且参与炎症反应[40-41]。正常分化的 LSEC能够预防 HSC 的活化和促使活化的 HSC 回归到平静状态，阻止了肝脏纤维化的进程；当肝脏出现毛细血管化时，LSEC 就会失去这些作用[42]。研究发现，当肝出现纤维化时，从肝中将 LSEC 分离出来进行培养，发现 LSEC 能够分泌促炎症因子、炎症趋化因子和诱导免疫的 T细胞[43]。如果这一研究在体内得到证实，这将表明肝窦毛细血管化时 LSEC 可能促进 HSC 的活化。

4 小结

本文通过综述与总结近年来 LSEC 的相关研究进展，探讨肝纤维化时 LSEC 结构和功能的变化，对防治和逆转肝纤维化过程具有重要意义，LSEC 在肝纤维化发展中作用机制非常复杂，并且作用范围相当广泛。因此，进一步深入对 LSEC 的窗孔及基底膜变化和分泌的细胞因子在肝脏微循环调节和微血管改变的研究，将有助于明确肝窦毛细血管化形成机理和肝内微血管功能、微循环改变以及与肝纤维化发生、发展的关系。LSEC 在肝纤维化和肝脏的免疫功能机制研究中具有重要的作用，对此方面的深入研究将有助于探讨LSEC 对肝纤维化的影响及其调控机制，这也使得基于 LSEC 的生理及病理的分子机制得到了更为完整的阐述。

参 考 文 献

[1] Knolle PA, Böttcher J, Huang LR. The role of hepatic immune regulation insystemic immunity to viral infection[J]. Medical Microbiology and Immunology, 2015, 204(1): 21-27.

[2] Pei XQ, Liu LZ, Zheng W, et al. Contrast-enhanced ultrasonography of hepatocellular carcinoma: correlation between quantitative parameters and arteries in neoangiogenesis or sinusoidal capillarization[J]. Eur J Radiol, 2012, 81(3): e182-e188.

[3] Xie G, Choi SS, Syn WK, et al. Hedgehog signalling regulates liver sinusoidal endothelial cell capillarisation[J]. Gut, 2013, 62(2): 299-309.

[4] Xie G, Wang X, Wang L, et al. Role of differentiation of liver sinusoidal endothelial cells in progression and regression of hepatic fibrosis in rats[J]. Gastroenterology, 2012, 142(4): 918-927.

[5] Bartneck M, Warzecha K T, Tacke F. Therapeutic targeting of liver inflammation and fibrosis by nanomedicine[J]. Hepatobiliary Surg Nutr, 2014, 3(6): 364-376.

[6] DeLeve LD, Wang X, Guo Y. Sinusoidal endothelial cells prevent rat stellatecell activation and promote reversion to quiescence[J]. Hepatology, 2008, 48(3): 920-930.

[7] Connolly MK, Bedrosian AS, Malhotra A, et al. In hepatic fibrosis, liver sinusoidal endothelial cells acquire enhanced immunogenicity[J]. J Immunol, 2010, 185(4): 2200-2208.

[8] Carambia A, Freund B, Schwinge D, et al. Nanoparticle-based autoantigen delivery to Treg-inducing liver sinusoidal endothelial cells enables control of autoimmunity in mice[J]. Journal of Hepatology, 2015, 62(6): 1349-1356.

[9] Wisse E, van' t Noordende JM, van der Meulen J, et al. The pit cell: descriptionof a new type of cell occurring in rat liver sinusoids and peripheral blood[J]. Cell Tissue Res, 1976, 173(4): 423-435.

[10] Neumann K, Rudolph C, Neumann C, et al. Liver sinusoidal endothelial cells induce immunosuppressive IL-10-producing Th1 cells via the Notch pathway[J]. Eur J Immunol, 2015, 45(7): 2008-2016.

[11] Zhao X, Zhao Q, Luo Z, et al. Spontaneous immortalization of mouse liver sinusoidal endothelial cells[J]. Int J Mol Med, 2015, 35(3): 617-624.

[12] Braet F. How molecular microscopy revealed new insights into the dynamics of hepatic endothelial fenestrae in the past decade[J]. Liver Int, 2004, 24(6): 532-539.

[13] Addo L, Tanaka H, Yamamoto M, et al. Hepatic nerve growth factor induced by iron overload triggers defenestration in liver sinusoidal endothelial cells[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(1): 175-183.

[14] DeLeve LD. Liver sinusoidal endothelial cells and liver regeneration[J]. J Clin Ivest, 2013, 123(5): 1861-1866.

[15] Hang TC, Lauffenburger DA, Griffith LG, et al. Lipids promote survival, proliferation, and maintenance of differentiation of rat liver sinusoidal endothelialcells in vitro[J]. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 2012, 302(3): G375-G388.

[16] Braet F, Spector I, Shochet N, et al. The new anti-actin agent dihydrohalichondramide reveals fenestrae-forming centers in hepatic endothelial cells[J]. BMC Cell Biology, 2002, 3(1): 7.

[17] Fraser R, Dobbs BR, Rogers GW. Lipoproteins and the liver sieve: the role ofthe fenestrated sinusoidal endothelium in lipoprotein metabolism, atherosclerosis, and cirrhosis[J]. Hepatology, 1995, 21(3): 863-874.

[18] Bankston PW, Pino RM. The development of the sinusoids of fetal rat liver: morphology of endothelial cells, Kupffer cells, and the transmural migration of blood cells into the sinusoids[J]. American Journal of Anatomy, 1980, 159(1): 1-15.

[19] Naito M, Wisse E. Filtration effect of endothelial fenestrations on chylomicron transport in neonatal rat liver sinusoids[J]. Cell Tissue Res, 1978, 190(3): 371-382.

[20] Herrnberger L, Hennig R, Kremer W, et al. Formation of Fenestrae in Murine Liver Sinusoids Depends on Plasmalemma Vesicle-Associated Protein and Is Required for Lipoprotein Passage[J]. PloS One, 2014, 9(12): e115005.

[21] Le Couteur DG, Warren A, Cogger VC, et al. Old age and the hepatic sinusoid[J]. The Anatomical Record, 2008, 291(6): 672-683.

[22] Fischer HP, Flucke U, Zhou H. Pathology along the liver sinusoids: endothelial and perisinusoidal findings[J]. Der Pathologe, 2008, 29(1): 37-46.

[23] Braet F, Wisse E. Structural and functional aspects of liver sinusoidal endothelial cell fenestrae: a review[J]. Comp Hepatol, 2002, 1(1): 1.

[24] 黄月红，郭杞兰，陈治新，等. 四氯化碳诱导肝纤维化早期大鼠肝窦内皮细胞及基底膜形态改变的动态研究[J]. 中国病理生理杂志，2014，30(8)：1501-1505，1531.

[25] Neubauer K, Krüger M, Quondamatteo F, et al. Transforming growth factor-beta1 stimulates the synthesis of basement membrane proteins laminin, collagen type IV and entactin in rat liver sinusoidal endothelial cells[J]. Journal Hepatol, 1999, 31(4): 692-702.

[26] Yeligar S, Tsukamoto H, Kalra VK. Ethanol-induced expression of ET-1 and ET-BR in liver sinusoidal endothelial cells and human endothelial cells involves hypoxia-inducible factor-1α and micro RNA-199[J]. J Immunol, 2009, 183(8): 5232-5243.

[27] Kwok W, Clemens MG. Rho-kinase activation contributes to Lps-induced impairment of endothelial nitric oxide synthase activation by endothelin-1 in cultured hepatic sinusoidal endothelial cells[J]. Shock, 2014, 42(6): 554-561.

[28] Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, et al. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid [J]. Science, 1983, 219(4587): 983-985.

[29] Akiyoshi F, Sata M, Suzuki H, et al. Serum vascular endothelial growth factorlevels in various liver diseases[J]. Digestive Diseases and Sciences, 1998, 43(1): 41-45.

[30] Furrer K, Rickenbacher A, Tian Y, et al. Serotonin reverts age-related capillarization and failure of regeneration in the liver through a VEGF-dependent pathway[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(7): 2945-2950.

[31] Leask A, Abraham DJ. TGF-β signaling and the fibrotic response [J]. The FASEB Journal, 2004, 18(7): 816-827.

[32] Wang BY, Ju XH, Fu BY, et al. Effects of ethanol on liver sinusoidal endothelial cells-fenestrae of rats[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2005, 4(3): 422-426.

[33] Perbal B. CCN proteins: multifunctional signalling regulators[J]. Lancet, 2004, 363(9402): 62-64.

[34] 王宪波，刘　平，唐志鹏，等. 肝窦毛细血管化的形成机制研究[J].中华消化杂志，2004，24(5)：289-292.

[35] Olsen BR. Life without perlecan has its problems[J]. J Cell Biol, 1999, 147(5): 909-912.

[36] 刘成海，闫秀川，刘　平. 基于肝细胞凋亡与网状支架破坏探讨抗肝纤维化中药的作用机制与治法特点[J]. 世界科学技术-中医药现代化，2007，9(6)：40-45.

[37] Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis[J]. Lancet, 2008, 371 (9615): 838-851.

[38] Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis[J]. Gastroenterology, 2008, 134(6): 1655-1669.

[39] DeLeve LD. Liver sinusoidal endothelial cells in hepatic fibrosis [J]. Hepatology, 2015, 61(5): 1740-1746.

[40] 李景强，吴　诚，张　园，等. 肝纤维化肝窦内皮细胞免疫功能改变的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志，2012，28(7)：776-777.

[41] Limmer A, Ohl J, Kurts C, et al. Efficient presentation of exogenous antigen by liver endothelial cells to CD8+ T cells results in antigen-specific T-cell tolerance[J]. Nat Med, 2000, 6(12): 1348-1354.

[42] Chen HJ, Liang TM, Lee IJ, et al. Scutellariae radix suppresses LPS-induced liver endothelial cell activation and inhibits hepatic stellate cell migration[J]. J Ethnopharmacology, 2013, 150(3): 835-842.

[43] Connolly MK, Bedrosian AS, Malhotra A, et al. Inhepatic fibrosis, liver sinusoidal endothelial cells acquire enhanced immunogenicity[J]. J Immunol, 2010, 185(4): 2200-2208.

（责任编辑：冉明会）