

肝细胞生长因子与肝脏胆道疾病

王天才, 项飞翔 综述 梁扩寰 审核

(华中科技大学同济医学院同济医院消化内科, 湖北 武汉 430030)

【中图分类号】R575

【文献标识码】A

【文章编号】1001-5256(2001)01-0011-03

肝细胞生长因子(Hepatocyte growth factor, HGF)是近年研究的热点,目前认为HGF可广泛应用于呼吸系统、泌尿系统、消化系统、骨骼系统及神经系统疾病。本文就HGF在肝脏胆道疾病方面的研究最新进展作一综述。

1 HGF的简介

肝细胞生长因子最先是由1984年日本Nakamura和1985年美国Michalopoulos分别报道的,其分子量为82 000,是由728个氨基酸组成的多肽,为一异二聚体,由轻链和重链组成。HGF受体由原癌基因c-Met编码。血清HGF来源是多源性的,主要是在肝脏组织。HGF促进肝细胞DNA合成,增强有丝分裂,对多种组织的生长和分化有重要意义。

2 HGF与肝病

2.1 HGF与肝炎

HGF可促进肝细胞的生长,因而对肝炎病毒所致肝脏损害有一定治疗作用。Rampino等^[1]认为血液透析可显著升高血清HGF水平,因而通过定期透析治疗(regular dialysis treatment, RDT)可模拟定期HGF治疗。他们将血清抗丙型肝炎病毒(HCV)阳性的21例患者,其中10例给予RDT为治疗组,另11例无肾脏疾病(without renal disease, WRD)者为对照组,测定其HGF水平、肝功能,并行肝组织活检。发现RDT组炎症坏死反应及纤维化程度较WRD组为轻,肝细胞凋亡数目也明显减少,而HGF释放的量较WRD组大,释放的时间较WRD组长。故认为RDT治疗组HCV所致肝损害较WRD组轻系因HGF的作用所致。

Phaneuf等^[2]动物实验发现正常鼠体内单纯注射腺病毒载体编码的人重组HGF(Ad.CMV.rhGHF)后,短期内可诱导DNA合成、肝细胞增生,故认为HGF对腺病毒所致的肝组织病理损害具有保护作用。

2.2 HGF与肝硬化

动物实验及临床研究表明HGF可用于肝硬化

及其并发症的治疗。Sato等^[3]在硫乙酰胺(thioacetamide, TAA)诱导的肝硬化动物模型上给予rhHGF治疗发现,治疗组肝纤维化程度明显轻于对照组,并发现rhHGF可降低TAA所诱导的原胶原蛋白 $\alpha_2(I)$ 、 $\alpha_1(IV)$ 及转化生长因子- $\beta(TGF-\beta)$ 的水平。故认为rhHGF减轻肝纤维化程度系通过降低TGF- β 水平,减少胶原合成,直接和间接刺激肝细胞的有丝分裂来实现的,这为rhHGF治疗肝硬化提供了依据。另有学者^[4]将HGF基因转染到二甲亚硝胺(dimethylnitrosamine, DMNA)所诱导的重度肝硬化动物模型的骨骼肌细胞上,从而使血浆中HGF水平升高。发现纤维产生及肝细胞凋亡受到抑制,而已形成的纤维也出现溶解,从而大大提高了动物的存活率。

临床研究也表明人胎肝细胞生长因子及促肝细胞生长素颗粒剂(促肝肽)可分别用于肝硬化及其腹水的治疗,改善患者肝功能,使病情好转^[5]。

2.3 HGF与肝癌

HGF与肝癌的关系日趋受到各国学者的重视,目前HGF是促进或抑制肝癌发生尚无定论。有报道,外源性添加HGF抑制多数肝癌细胞株的增生(HepG2, Hep3B, Fao, HuH7, Focus, SKHepl, TON6, Ha22T),促进少数癌细胞株的增生(HuH6, Clone5)或无影响(HE, HuH7, PLC/PRF/5)^[6]。

将HGF基因转入Fao后形成转基因肝癌细胞株(Fao HGF),低浓度血清培养Fao HGF后发现其增生被抑制,这种抑制作用可用抗HGF血清解除。裸鼠种植实验发现,Fao HGF肿瘤发生率及肿瘤重量均少于原Fao株,因而认为HGF可特异性抑制Fao细胞的增生。C-myc/HGF双转基因鼠(c-myc/HGF-Tg)实验表明,c-myc/HGF-Tg腺瘤发生时间较c-myc转基因鼠(c-myc/-Tg)推迟,肿瘤数量减少;在c-myc/-Tg发生的肝癌也未在c-myc/HGF-Tg出现。说明HGF可抑制c-myc的致瘤、致癌作用^[6]。

Tavian^[7]等用逆转录PCR(reverse transcription polymerase chain reaction)技术检测71例不同患者

收稿日期:2000-11-17 修订日期:2001-02-06

及正常人的肝组织中 HGF 及 c-Met mRNA 的表达,证实肝细胞癌患者肝组织中 HGF mRNA 呈低表达,而 c-Met mRNA 呈高表达。且发现 HGF、c-Met 的表达与患者的性别、年龄,肿瘤的大小、恶性细胞的增殖程度无关,c-Met mRNA 的表达水平与患者的存活时间成负相关。认为 c-Met 可能是肝细胞癌演变的相关标志物。

患恶性肝胚细胞瘤的儿童行肝切除术后可观察到残余瘤细胞迅速生长。有学者^[8]研究 HGF 在此过程中的作用,发现 18 例行肝部分切除术的患者有 13 例、16 例行化疗后肿瘤萎缩的患者中有 6 例血清中 HGF 较未行治疗的肝胚细胞瘤患者及同龄正常对照组明显升高,达 15ng/ml。并发现瘤组织内上皮肿瘤细胞高表达 HGF 及 c-Met。体外给予 rhHGF,当浓度为(1-15)ng/ml 时,肝胚细胞瘤株 HepT1、HepT3 及 HuH6 细胞再生明显增加;当浓度为(20-30)ng/ml 时,肝胚细胞瘤细胞再生停止;而当浓度≥100ng/ml 时,细胞开始死亡。因而认为术后分泌的及瘤内产生 HGF 是肝胚细胞瘤的生长因子之一,而高于生理剂量的 HGF 则有抑制瘤细胞生长的效应。

另有报道指出,HGF 可促进二乙基硝氨(DEN)及 3'-甲基-对二甲氨基偶氮苯(3'-Me-DAB)诱发肝癌过程中增生结节不典型增生灶细胞的增殖^[6]。

有人认为 HGF 可增强肝癌细胞的侵袭性。研究表明 HGF 可大大提高体外肝癌细胞株的侵袭性,认为可能是通过诱使其表达膜-1 型基质金属蛋白酶(membrane-type 1 matrix metalloproteinase, MT1-MMP)实现的^[9,10]。

Iseki^[11]等研究了 HGF 对人类肝肿瘤细胞 HepG2 及鼠肝细胞白蛋白基因表达的影响。发现 HGF 可激活 HepG2 细胞白蛋白启动子的活性,抑制甲胎蛋白(AFP)增强子的活性,降低 HepG2 细胞白蛋白的 mRNA 水平;而 HGF 对鼠肝细胞白蛋白的启动子、AFP 的增强子活性均有刺激作用,对肝细胞白蛋白表达的影响作用不定。

3 HGF 与胆道疾病

3.1 HGF 与胆道阻塞

Kimura 等^[12]对 22 例胆道阻塞并行经皮肝、胆分流术的患者进行了研究,发现与健康对照组相比,胆道阻塞患者血浆人肝细胞生长因子(human HGF, hHGF)浓度明显升高,其浓度与白细胞计数、凝血酶原时间、胆红素半衰期相关。认为胆道阻塞所导致的系统炎症、肝功能损害可致血浆 hHGF 浓

度升高。同时也认为 HGF 水平与胆道阻塞患者预后有关。研究发现 7 例行胆汁分流术后在 3 个月内死亡的患者,其血浆 hHGF 水平较其他 15 例(存活时间>3 个月)明显升高。并发现存活者胆汁分流术后血浆 hHGF 浓度有明显下降,而死亡者则无此现象。因而认为高血浆 hHGF 浓度是阻塞性黄疸患者预后不良的标志。

3.2 HGF 与胆管癌

近来研究表明 HGF 与胆管癌的发病有关。有人^[13]发现,在吡喃诱导的胆管癌动物模型上,HGF 受体主要在新生腺体及癌前病变的肝胆管纤维化组织的化生上皮细胞上表达,而 HGF 的异常表达与其受体相平行。并发现体内注射 C611B 瘤细胞所致鼠胆管癌动物模型上癌上皮细胞呈 HGFmRNA 高表达。认为 HGF 可能参与了胆管癌的发生。

Yokamuro^[14]等进行的体外实验发现:在培养的胆管癌(Cholangiocarcinoma, CC)细胞株 SG231、正常人胆管上皮细胞(biliary epithelial cells, BEC)给予外源性 HGF 可诱导细胞 DNA 的合成;并发现 CC 在无血清培养基中可继续生长,且自发产生 HGF。因而认为 HGF 可刺激 BEC 及 CC 的生长,而 CC 的生长存在自分泌环状控制环路。

有学者^[15]对 51 例行治疗性切除术的肝内胆管肿瘤患者进行临床研究,发现 c-Met 水平与肿瘤的定位、分类、分期、神经周围侵犯及局部复发有显著相关性,HGF 及 c-Met 免疫阳性的患者的存活率明显较阴性者低,提示 HGF/c-Met 在肿瘤演变中具有一定作用,HGF/c-Met 免疫反应可能是肿瘤复发及预后不佳的标志。

4 讨论

HGF 从发现至今不足 20 年,但关于这方面的研究报道已有不少。HGF 与肝胆胆道疾病密切相关。现有资料表明 HGF 促进肿瘤细胞的生长、侵袭作用,可能与肿瘤的恶性程度相关。但目前关于 HGF 作用的分子细胞学机制方面的研究尚很少。进一步研究 HGF 与各消化系统疾病的关系,阐明 HGF 作用的分子细胞学机制,将有助于 HGF 在临床上的应用。

[参考文献]

[1] Rampino T, Arbustini E, Gregorini M, et al. Hemodialysis prevents liver disease caused by hepatitis C virus: role of hepatocyte growth factor[J]. Kidney Int, 1999, 56(6):2286-2291.
[2] Phanenf D, Chen SJ, Wilson JM. Intravenous injection of an adenovirus encoding hepatocyte growth factor results in liver growth and has a protective effect against apoptosis[J]. Mol Med, 2000, 6(2):

- 96-103.
- [3] Sato M, Kakubari M, Kawamura M, et al. The decrease in total collagen fibers in the liver by hepatocyte growth factor after formation of cirrhosis induced by thioacetamide[J]. *Biochem Pharmacol*, 2000, 59(6):681-690.
- [4] Ueki T, Kaneda Y, Tsutsui H, et al. Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats[J]. *Nat Med*, 1999, 5:226-230.
- [5] 邵福灵,任锡玲,李素琴,等. 人胎肝细胞生长因子治疗肝硬化52例临床研究[J]. *新医学*, 1999, 30(5):267-268.
- [6] 路建平. 肝细胞生长因子与肝癌[J]. *肝脏*, 1999, 4(4):232-233.
- [7] Taviani D, De Petro G, Benetti A, et al. U-PA and c-Met mRNA expression is coordinately enhanced while hepatocyte growth factor mRNA is down-regulated in human hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2000, 87(5):644-649.
- [8] Von Schweinitz D, Faundez A, Teichmann B, et al. Hepatocyte growth factor-scatter factor can stimulate post-operative tumor-cell proliferation in childhood hepatoblastoma[J]. *Int J Cancer*, 2000, 85(2):151-159.
- [9] Murakami K, Sakukawa R, Ikeda T, et al. Invasiveness of hepatocellular carcinoma cell lines: contribution membrane-type 1 matrix metalloproteinase[J]. *Neoplasia*, 1999, 1:424-430.
- [10] Guirouilh J, Castroviejo M, Balabau C, et al. Hepatocarcinoma cells stimulate hepatocyte growth factor secretion in human liver myofibroblasts[J]. *Int J Oncol*, 2000, 17:777-781.
- [11] Iseki K, Nakao K, Nakata K, et al. Diverse regulations of albumin gene expression by hepatocyte growth factor in HepG2 human hepatoma cells and primary culture of rat hepatocytes[J]. *Int J Oncol*, 2000, 16:1141-1145.
- [12] Kimura F, Miyazaki M, Suwa T, et al. Plasma human hepatocyte growth factor concentration in patients with biliary obstruction[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2000, 15(1):76-82.
- [13] Lai GH, Radaeva S, Nakamura T, et al. Unique epithelial cell production of hepatocyte growth factor/scatter factor by putative precancerous intestinal metaplasias and associated "intestinal-type" biliary cancer chemically induced in rat liver[J]. *Hepatology*, 2000, 31(6):1257-1265.
- [14] Yokomuro S, Tsuji H, Lunz JG 3rd, et al. Growth control of human biliary epithelial cells by interleukin 6, hepatocyte growth factor, transforming growth factor beta, and activin A: comparison of a cholangiocarcinoma cell line with primary cultures of non-neoplastic biliary epithelial cells[J]. *Hepatology*, 2000, 32(1):26-35.
- [15] Hida Y, Morita T, Fujita M, et al. Clinical significance of hepatocyte growth factor and c-Met expression in extrahepatic biliary tract cancer[J]. *Oncol Rep*, 1999, 6:1051.

拉米夫定治疗乙型肝炎产生变异株的研究进展

张景遥,赵秀华 综述 许百全 审校
(济南市传染病医院,山东 济南 250021)

【中图分类号】R512.6⁺2

【文献标识码】A

【文章编号】1001-5256(2002)01-0013-02

拉米夫定(Lamivudine)于1998年底被我国药品监督管理局和美国FDA批准用于治疗慢性乙型肝炎。目前该药临床试用已逾4年,显示出高效的抗病毒作用。国内接受治疗者也日增,但随用药时间延长,耐药变异株的出现愈来愈引起临床的重视。

1 变异株的发生情况

在拉米夫定治疗的患者中,已经检测出基因变异的HBV毒株,这些HBV变异株在其编码HBV聚合酶的基因中发生了变异,并且在体外对拉米夫定不敏感^[1]。目前的观点认为:这些变异在应用拉米夫定之前即已存在,但极少检测到。在应用拉米夫定后由于野毒株被抑制,变异株成为优势毒株,才被检测出。目前YMDD变异倍受重视,还有其他变异,但发生率低,与临床关系也尚未确定^[2,3]。服用

拉米夫定6个月后便有YMDD变异株被检测到,并且随着时间的延长不断增多。拉米夫定每天100mg治疗1年时14%的病例可检测到YMDD变异,2年检出率58%,4年检出率67%^[4,5]。我们观察一年时为12%,两年时为49%。Marc等报道在治疗前HBeAg阳性病人的变异率高,1年时的变异率为16%,2年时的变异率为65%,3年时的变异率为73%^[6]。Pretro等也有类似观点^[7]。

2 YMDD变异的类型,分子机制及耐药机理

| | | |
|-------------------------------|---------------|--------------|
| HBV-DNA聚合酶的氨基酸序列 | ... FLAQ ... | ... YMDD ... |
| 密码子 | 528 | 552 |
| I组变异 | ... FLMAQ ... | ... YVDD ... |
| II组变异 | ... | ... YIDD ... |
| III组变异 | ... FLMAQ ... | ... YIDD ... |
| F=苯氨酸 L=亮氨酸 A=丙氨酸 Q=谷氨酸 Y=酪氨酸 | | |
| M=蛋氨酸 D=天冬氨酸 V=缬氨酸 I=异亮氨酸 | | |

基因测序分析显示:HBV基因组中的自发变异

收稿日期:2001-02-02 修订日期:2001-04-05