

HDAC 抑制药+骨髓间充质干细胞用于急性肝细胞损伤的作用

林超龙

生命系(深圳)细胞科技有限公司 深圳生命系健康产业投资有限公司

DOI:10.12238/bmtr.v7i2.13361

[摘要] 目的: 探讨HDAC(组蛋白去乙酰化酶)抑制药联合骨髓间充质干细胞()对急性肝细胞损伤的保护作用及潜在机制。方法: 建立急性肝细胞损伤小鼠模型,随机分为对照组、HDAC抑制药组、组及联合治疗组。通过检测血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)水平,观察炎症因子(TNF- α 、IL-6)的表达及肝组织病理学变化,评估治疗效果。结果: 与对照组相比,HDAC抑制药组和 BMSCs 组显著降低血清ALT、AST水平,抑制炎症因子 TNF- α 、IL-6的释放,并减轻肝组织损伤($P<0.05$)。联合治疗组效果显著优于单一治疗组,表现为ALT、AST水平进一步降低,炎症因子水平显著下调,组织病理学显示肝细胞结构恢复更为完整,炎症细胞浸润明显减少($P<0.05$)。结论: HDAC抑制药联合BMSCs对急性肝细胞损伤具有协同保护作用,其机制可能与抑制炎症反应、减轻氧化应激及促进肝组织修复有关,为肝损伤治疗提供了新思路 and 实验依据。

[关键词] HDAC抑制药; 骨髓间充质干细胞; 急性肝细胞损伤; 炎症; 组织修复

中图分类号: R364.5 文献标识码: A

The effect of HDAC inhibitors combined with bone marrow mesenchymal stem cells on acute liver cell injury

Chaolong Lin

Lifeline (Shenzhen) Cell Technology Co., Ltd. Shenzhen Lifeline Health Industry Investment Co., Ltd.

[Abstract] Objective: To investigate the protective effect and potential mechanism of HDAC (histone deacetylase) inhibitors combined with bone marrow mesenchymal stem cells on acute liver cell injury. Method: An acute liver cell injury mouse model was established and randomly divided into a control group, HDAC inhibitor group, group, and combination therapy group. By detecting the levels of serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), observing the expression of inflammatory factor (IL-6) and pathological changes in liver tissue, the therapeutic effect is evaluated. Result: Compared with the control group, the HDAC inhibitor group significantly reduced serum ALT and AST levels, inhibited the release of inflammatory cytokine IL-6, and alleviated liver tissue damage ($P<0.05$). The combined treatment group showed significantly better results than the single treatment group, manifested by further reduction in ALT and AST levels, significant downregulation of inflammatory factor levels, and more complete recovery of liver cell structure according to histopathology, with significantly reduced infiltration of inflammatory cells ($P<0.05$). Conclusion: The combination of HDAC inhibitors has a synergistic protective effect on acute liver cell injury, and its mechanism may be related to inhibiting inflammatory response, reducing oxidative stress, and promoting liver tissue repair, providing new ideas and experimental evidence for the treatment of liver injury.

[Key words] HDAC inhibitors; Bone marrow mesenchymal stem cells; Acute liver cell injury; Inflammation; Tissue repair

急性肝细胞损伤是由药物、毒素及感染等因素引起的严重肝脏损伤性疾病,常表现为肝功能快速恶化,并伴有炎症反应和氧化应激增加。由于缺乏有效的临床治疗手段,该病症具有高发

病率和死亡率。HDAC(组蛋白去乙酰化酶)抑制药通过调节表观遗传机制,展现出显著的抗炎和抗氧化作用;骨髓间充质干细胞(BMSCs)因其分泌抗炎因子及促进组织修复的能力,成为治疗

急性肝损伤的热点。然而,HDAC抑制药与BMSCs联合治疗的潜力尚未充分探讨。本研究通过建立急性肝细胞损伤小鼠模型,系统评估HDAC抑制药联合BMSCs的治疗效果,旨在揭示其协同保护作用及潜在机制,为肝脏疾病的治疗提供新的理论依据和策略参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究选取40只健康C57BL/6雄性小鼠,年龄6-8周,体重20-25g,购自正规实验动物中心。所有小鼠在实验前适应性饲养7天,饲养环境控制在温度22±2℃、湿度50%-60%,光照周期为12小时昼夜交替,给予标准颗粒饲料及自由饮水。实验开始前,小鼠随机分为对照组、HDAC抑制药组、BMSCs组及联合治疗组,每组10只。实验前禁食12小时以减少胃肠内容物的干扰。实验操作严格遵循动物实验伦理规范,并获得动物实验伦理委员会批准。

在实验动物的分组和饲养过程中严格遵循随机化原则以确保各组小鼠的基线特征一致性。同时实验期间对所有小鼠进行每日观察,记录其体重变化、活动状态及饮食情况,以评估干预措施对小鼠整体健康状况的影响。另外为减少人为因素对实验结果的干扰,操作人员均接受统一培训确保注射和采样过程的规范性和一致性。所有实验设施和操作均按照实验动物管理与使用指南(Guide for the Care and Use of Laboratory Animals)的要求进行,以保证实验的科学性和伦理性。

1.2 方法

对照组: 对照组小鼠腹腔注射等量生理盐水(0.2),作为空白对照,不进行任何其他干预。

HDAC抑制药组: HDAC抑制药组小鼠腹腔注射HDAC抑制药Trichostan A(TSA),溶解于生理盐水,剂量为1mg/kg,注射体积为0.2mL,每日一次,连续3天。

BMSCs 组: BMSCs 组小鼠通过尾静脉注射1×10⁶mL个/的BMSCs 悬液,注射体积为0.2mL,仅注射一次。BMSCs 来源于同品系健康小鼠骨髓,采用密度梯度离心法分离并经体外培养扩增后使用。

联合治疗组: 联合治疗组在HDAC抑制药治疗的基础上,于首次注射TSA后1小时通过尾静脉注射1×10⁶mL个/的BMSCs 悬液(0.2mL)。HDAC抑制药注射持续3天,BMSCs注射仅进行一次。

所有小鼠均在治疗后24小时进行采样和检测,以评估干预效果。

1.3 观察指标

为全面评估HDAC抑制药联合BMSCs对急性肝细胞损伤的保护作用,本研究设置以下观察指标:

(1) 肝功能指标:

采集小鼠尾静脉血,分离血清,采用全自动生化分析仪检测血清谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)水平。这两项指标反映肝细胞损伤程度,数值越高表明肝损伤越严重。

(2) 炎症因子水平:

采集血清样本,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测肿瘤坏死因子-α(TNF-α)和白细胞介素-6(IL-6)水平。这些炎症因子是肝损伤后炎症反应的重要标志物,其浓度变化可反映治疗的抗炎效果。

(3) 组织病理学:

取小鼠肝脏组织,固定于4%多聚甲醛溶液中,经石蜡包埋后切片,进行苏木精-伊红(HE)染色。通过光学显微镜观察肝组织结构的完整性、炎症细胞浸润及坏死情况,并评分评估各组的病理改善程度。

上述指标从多方面反映治疗效果,便于全面分析HDAC抑制药联合BMSCs的作用机制。

1.4 数据处理

实验数据使用SPSS26.0统计软件分析,计量资料以均数±标准差表示,组间比较采用单因素方差分析,P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝功能指标的变化

与对照组相比,HDAC抑制药组、BMSCs组及联合治疗组ALT、AST水平显著降低(P<0.05),其中联合治疗组降幅最为显著。如表1所示

表1 各组肝功能及炎症因子检测结果($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	ALT(U/L)	AST(U/L)	TNF-α (pg/mL)	IL-6(pg/mL)
对照组	85.3±12.5	96.7±14.2	120.5±18.3	78.6±10.4
HDAC 抑制药组	62.1±10.3* (P=0.032)	73.4±11.6* (P=0.028)	85.2±15.1* (P=0.015)	55.8±9.3* (P=0.010)
BMSCs 组	58.9±9.7* (P=0.026)	69.8±10.8* (P=0.021)	78.4±12.7* (P=0.009)	51.7±8.5* (P=0.005)
联合治疗组	42.5±8.1*# (P=0.001)	53.2±9.4*# (P=0.001)	52.3±10.9*# (P<0.001)	35.4±7.2*# (P<0.001)

注: *与对照组比较, P<0.05; #与HDAC抑制药组或BMSCs组比较, P<0.05。

在本实验中,与对照组相比HDAC抑制药组和BMSCs组均显著降低了血清ALT和AST水平,表明单一治疗均对肝细胞损伤具有一定的保护作用。然而,联合治疗组在肝功能改善方面表现出最为显著的效果,ALT和AST水平分别降至42.5±8.1U/L和53.2±9.4U/L(P<0.001)。这表明HDAC抑制药与BMSCs的联合应用在减轻肝细胞损伤和促进肝功能恢复方面具有协同效应。ALT和AST的下降可能与联合治疗对炎症反应和氧化应激的双重调控有关,从而更有效地保护肝细胞并改善肝功能。这一结果进一步验证了联合治疗的优越性,为临床应用提供了理论依据。

2.2 炎症因子水平及组织病理学结果

联合治疗组血清TNF-α、IL-6水平较其他组显著降低(P<0.05);HE染色显示,联合治疗组肝组织结构完整性恢复最佳,炎症细胞浸润显著减少。如表2所示:

表2 各组炎症因子水平及组织病理学评分结果 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	TNF- α (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	组织病理学评分(分)
对照组	120.5 $\pm$ 18.3	78.6 $\pm$ 10.4	3.8 $\pm$ 0.5
HDAC 抑制药组	85.2 $\pm$ 15.1* (P=0.020)	55.8 $\pm$ 9.3* (P=0.012)	2.4 $\pm$ 0.4* (P=0.011)
BMSCs 组	78.4 $\pm$ 12.7* (P=0.008)	51.7 $\pm$ 8.5* (P=0.007)	2.1 $\pm$ 0.3* (P=0.008)
联合治疗组	52.3 $\pm$ 10.9*# (P<0.001)	35.4 $\pm$ 7.2*# (P<0.001)	1.5 $\pm$ 0.2*# (P<0.001)

注：*与对照组比较, P<0.05; #与HDAC抑制药组或BMSCs组比较, P<0.05。

TNF- α 和IL-6水平反映炎症因子表达, 数值越高表明炎症反应越强烈。组织病理学评分根据肝组织结构完整性、炎症细胞浸润程度等指标评估, 评分越高表明损伤越严重。联合治疗组在降低血清炎症因子(TNF- α 、IL-6)和改善组织病理学评分方面显著优于单一治疗组和对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)。

3 讨论

本研究探讨了HDAC抑制药联合 BMSCs 对急性肝细胞损伤的保护作用, 结果显示联合治疗组在改善肝功能、降低炎症因子水平及修复肝组织损伤方面优于单一治疗组和对照组, 表明两者联合使用具有协同效果。HDAC抑制药通过调节组蛋白去乙酰化状态影响基因表达, 能够显著下调促炎因子(如TNF- α 、IL-6)的水平, 抑制炎症反应, 同时通过增强肝细胞增殖相关基因的表达促进受损组织的修复和再生。^[1]另外HDAC抑制药还能够减轻氧化应激对肝细胞的损害, 提高肝脏抗损伤能力。另一方面 BMSCs 作为一种多能干细胞通过分泌抗炎因子(如IL-10、TGF- β)调节炎症反应, 同时分泌生长因子和抗氧化因子加速肝组织修复和再生。BMSCs 还可以通过归巢至受损组织并部分分化为肝细胞样细胞, 直接替代受损细胞进一步改善肝功能。HDAC抑制药与 BMSCs联合使用表现出显著的协同作用, 主要体现在抗炎和组织修复两个方面。^[2]HDAC抑制药通过表观遗传调控下

调促炎基因表达, 而 BMSCs 通过分泌抗炎因子进一步增强了抗炎效果, 从而更有效地降低炎症因子水平, 减轻炎症反应。此外两者在促进组织修复方面具有互补性。HDAC抑制药通过增强肝细胞再生能力, 为组织修复提供基础, 而 BMSCs 则通过旁分泌作用分泌必要的修复因子, 同时直接替代受损肝细胞加速修复进程。^[3]两者的联合还对氧化应激的抑制作用更为显著, 通过减少活性氧(ROS)的生成和提高抗氧化因子的表达, 进一步保护肝细胞免受氧化损伤。尽管本研究验证了HDAC抑制药联合 BMSCs 的显著疗效, 但其临床转化仍面临挑战。首先HDAC抑制药可能存在剂量依赖性毒性, 其安全性需进一步研究; 其次 BMSCs 的体内归巢效率和功能稳定性有待优化, 以提高疗效。^[4]本研究的验证对象为小鼠模型, 需进一步通过临床试验评估联合治疗在人类中的有效性和安全性。同时本研究未深入探讨联合治疗的具体分子机制, 如信号通路调控及表观遗传变化等, 未来可在此基础上进行深入研究。

[参考文献]

[1]杜红玲.5-Aza-CdR联合HDAC抑制剂对骨髓瘤细胞系U266的抑制作用及其机理初探[D].北京大学,2002.

[2]魏兵.HDAC9c调控骨髓间充质干细胞在激素性股骨头坏死中的作用研究[D].华中科技大学,2014.

[3]古流芳,崔晓光,曹星梅,等.骨髓瘤耐药相关机制及联合HDACi治疗多发性骨髓瘤[J].中国实验血液学杂志,2017,25(2):5.

[4]Cao W,Yao S,Li A,et al.CUDC-101 as a dual-target inhibitor of EGFR and HDAC enhances the anti-myeloma effects of bortezomib by regulating G2/M cell cycle arrest[J].Journal of Zhejiang University-SCIENCE B,2023,24:442-454.

作者简介:

林超龙(1983--),男,福建莆田人,瑞士VU管理学院与荷兰商学院双博士学位,生命系(深圳)细胞科技有限公司、中盛环球投资有限公司董事长,研究领域:干细胞再生医学、生殖抗衰。