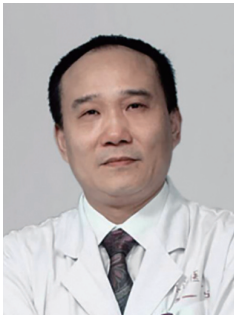


潘国宇, 博士, 中国科学院上海药物研究所正高级研究员, 博士生导师。2003年获得中国药科大学博士学位, 2004~2006年在美国明尼苏达大学从事博士后工作。2007年加入美国诺华制药公司, 担任高级研究员, 从事药物肝脏代谢和安全性评价工作; 2008年担任诺华全球药物转运体委员会副主席和转化机制实验室主管; 2011年入选中科院“百人计划”, 担任中科院上海药物研究所安评中心研究员, 博士生导师, 课题组长。主要从事药物毒性机制及其在肝脏内代谢研究和GLP管理等工作。先后承担多个国家级、省级科研项目, 发表SCI学术论文40余篇, 编写药学专著2部。2012年起, 开始进行肝脏替代模型开发和细胞治疗研究工作。目前, 潘国宇教授承担“十三五”国家重点研发项目“生物人工肝”并参与中科院先导专项“肝脏体外构建”等项目, 主持并参与多项相关标准制定和临床研究工作, 为细胞产品真正走向临床而努力。

[http://sourcedb.simm.cas.cn/zw/zjrc/201105/t20110516\\_3133121.html](http://sourcedb.simm.cas.cn/zw/zjrc/201105/t20110516_3133121.html)



高毅, 南方医科大学珠江医院肝胆外科主任, 二级教授, 主任医师, 博士/博士后研究生导师、意大利锡耶纳大学访问学者。1992年获得第二军医大学外科学博士学位, 1992~2004年在第一军医大学珠江医院从事外科临床工作。2000年获得广东省科技进步二等奖, 2006年入选广东省高等院校“千百十工程”省级人选。2008年起, 先后担任南方医科大学再生医学研究所所长、广东省人工器官与组织工程研究中心主任、器官衰竭防治国家重点实验室PI, 广州市人工肝脏临床医学研究与转化中心主任。主要研究方向为生物人工肝、肝肿瘤与肝脏移植的基础与临床研究、肝脏组织工程等。在国内外发表相关学术论文100余篇, 编写医疗专著书籍5部, 获国家发明专利证书18项, 实用新型专利证书8项。曾主持“十一五”和“十二五”国家863生物人工肝项目, 在混合人工肝种子细胞、支架材料、细胞大规模三维培养扩增技术、灵长类等肝衰竭大动物体内验证平台构建等方面取得了重大研究进展和成果; 在“十三五”国家重点研发项目人工肝课题方面将推进一体化集成的混合人工肝ZhJ-III开展临床试验, 加速产业化发展。

## 生物人工肝的研究进展

武之涛<sup>1</sup> 彭青<sup>2</sup> 高毅<sup>2\*</sup> 潘国宇<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>中国科学院上海药物研究所, 上海 200120; <sup>2</sup>南方医科大学珠江医院, 广州 510282)

**摘要** 肝衰竭是临床常见的严重肝病症候群, 病死率极高, 除肝移植外, 目前尚无有效的治疗方法。人工肝支持系统是治疗肝功能衰竭的重要方法之一, 主要包括非生物型人工肝和生物型人工肝。结合了功能性肝细胞的生物型人工肝装置可发挥肝脏解毒、合成、代谢等功能, 并且可以部分替代人体肝脏功能。生物型人工肝研发的关键在于种子细胞的筛选和生物反应器的构建。具有良好特性种子细胞的生物人工肝对于肝衰竭的疗效已在一些临床前研究中得以体现, 并且目

\*通讯作者。Tel: 021-20231000-1715, E-mail: gaoyi6146@163.com; gypan@simm.ac.cn

\*Corresponding authors. Tel: +86-21-20231000-1715, E-mail: gaoyi6146@163.com; gypan@simm.ac.cn

网络出版时间: 2019-05-10 14:09:36

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190510.1302.022.html>

前已启动了多个生物人工肝的临床研究。该文从种子细胞的来源、生物反应器结构分类和临床应用等不同方面,对目前生物型人工肝的发展现状进行了综述。

**关键词** 肝衰竭; 人工肝; 生物人工肝; 肝细胞; 生物反应器

## Advances in Bioartificial Liver System

Wu Zhitao<sup>1</sup>, Peng Qing<sup>2</sup>, Gao Yi<sup>2\*</sup>, Pan Guoyu<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200120, China;

<sup>2</sup>Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, China)

**Abstract** Liver failure is a complex and progressive syndrome with high mortality. Liver transplantation is the final option. Artificial liver support devices are one of the solutions to treat liver failure, which include non-biological artificial liver devices and bioartificial liver devices. Bioartificial liver devices containing functional hepatocytes provide the supportive functions close to liver, including detoxification, synthetic functions and bio-transformation activities. High-quality hepatocytes and optimized bioreactors are critical to develop an effective bioartificial liver device. The efficacy of bioartificial liver with good functional cells has been confirmed in pre-clinical studies, while clinical trials are conducted by different groups. This paper reviewed the status in quo of bioartificial liver devices by focusing on the source of functional cells, the types of bioreactor, and the ongoing clinical researches.

**Keywords** liver failure; artificial liver; bioartificial liver; hepatocyte; bioreactor

我国每年新发肝衰竭患者30万以上,死亡率高达70%。肝移植是治疗肝功能衰竭最有效的手段,但由于器官供体短缺等原因,临床上每年肝衰竭患者实施肝移植的比例不到2%,更多患者在等待供肝的过程中死亡。除了肝移植外,目前尚无其他有效的方法治疗肝衰竭。

人工肝支持系统,包括非生物型和生物型人工肝(bioartificial liver system, BAL),即分别通过物理学和生物学的综合手段,清除肝衰竭等危重肝病患者血液中毒性代谢产物,部分替代肝脏的代谢及合成功能,改善病人体内微环境,为肝脏的再生赢得时间,延缓肝衰竭患者的生命。传统的非生物型人工肝装置主要以物理吸附、清除毒素为主,其治疗效果有限。

生物型人工肝包含具有代谢、合成、转化功能的肝细胞。它不仅能够清除血浆内的有毒和有害物质,还参与生物合成(包括分泌促进肝细胞生长的活性物质)、生物转化等过程,从而达到暂时的支持效果,具备较好的治疗潜力和发展前景。

生物型人工肝的发展长期受制于两个因素:一是缺乏合适的种子细胞,肝细胞的来源和功能维持

受限;二是缺少设计优良、结构合理及相容性好的生物反应器,从而导致生物人工肝尚未在临床得到真正的使用。目前,随着再生医学的技术发展,通过重编程技术可获得功能性的类肝细胞,这极大地推动了细胞源的获得,从而为承载细胞治疗的生物人工肝研发提供了新的契机。

### 1 肝衰竭及其临床需求

肝衰竭是临床常见的严重肝病症候群,病死率极高。通常指有多种因素引起的肝脏损害,导致其合成、解毒、排泄和生物转化等功能发生严重障碍或失代偿,出现以凝血功能障碍、黄疸、肝性脑病、腹水等为主要表现的一组临床症候群<sup>[1]</sup>。我国肝衰竭的病因主要是乙肝病毒(HBV)感染,这也是我国最常见的肝脏疾病死亡原因,临床表现以慢加急性肝衰竭(acute-on-chronic liver failure, ACLF)为主,其次是药物及肝毒性物质导致的肝衰竭。在欧美国家,引起慢性或慢加急性肝衰竭的诱因主要是酒精性肝损害<sup>[2]</sup>。近年来,慢性和慢加急性肝衰竭的发病率在各国都呈增加趋势。

肝衰竭的病死率非常高,其每年的发病及死亡

人数不低于任何一种恶性肿瘤。据统计,急性肝衰竭病人在接受治疗后28天的死亡率高达50%,而慢加急性肝衰竭的病死率也有30%~40%,是一种发病率高,死亡率高的重大疾病<sup>[3]</sup>。目前,临床上肝衰竭的治疗方式比较有限,主要是内科综合治疗和肝移植。对于内科综合治疗,主要是一般支持治疗或服用保肝药物,治疗后的死亡率居高不下,疗效有限。而肝移植是临床上最有效的治疗方案,但由于肝源供体不足,临床上仅有不到2%的肝衰患者可以实施肝移植(据统计,2017年中国完成的肝移植手术不到5千例)。这与上百万的肝衰竭病人相比可谓杯水车薪。因此,为了桥接肝衰竭患者等到肝源,国内外越来越聚焦于人工肝支持系统。

## 2 人工肝支持系统

人工肝的概念早在上个世纪50年代就已经被提出<sup>[4]</sup>,用于重症肝病和肝衰竭治疗。人工肝支持系统是借助体外机械、理化和生物装置,清除肝衰竭患者体内各种有害物质,补充必需物质,改善内环境,暂时替代部分肝脏功能,从而为肝细胞再生和肝功能恢复提供条件并延长病人等待肝移植的时间<sup>[1]</sup>。

人工肝支持系统分为非生物型和生物型人工肝。非生物型人工肝主要是依靠过滤或者吸附等理化方法来去除毒物,具体应用包括血液透析、血浆灌流、血液置换、分子吸附再循环系统等。传统上的分子吸附再循环等技术已经进入临床,但是报道显示,该治疗方案不能有效改善生存率<sup>[5]</sup>。近年来,双重血浆分子吸附(double plasma molecule absorb system, DPMARS)技术逐渐在临床上得到推广。但

是该治疗方法也同样存在非特异性吸附其他有益血浆成分,存在加重凝血障碍等问题<sup>[6-7]</sup>。同时由于无法替代肝脏蛋白质和凝血因子等合成以及生物转化,且非生物型人工肝的应用往往需要和血浆置换相结合,因此该方法限制因素较多<sup>[8]</sup>。

而生物型人工肝由于含有功能性肝细胞,具有生物合成和分泌代谢的功能,是与正常肝脏最为接近的人工肝支持系统,是未来发展的方向,有望成为重型肝炎、肝衰竭患者最具有创新性与挑战性的治疗措施。生物人工肝支持系统主要包括核心细胞、生物反应器和辅助透析循环装置,它是将培养的外源性肝细胞放置或培养于体外生物反应器中,通过透析循环装置将患者血液或血浆流经反应器,再通过半透膜或直接接触的方式与培养的肝细胞进行物质交换(图1)。肝细胞合成的有益蛋白如白蛋白、凝血因子等可以及时补充给患者,而患者体内的血浆有毒物质等可以被肝细胞所吸附或代谢,从而起到缓解病人肝脏压力,维持病人体内内环境稳态的作用<sup>[9]</sup>。南京鼓楼医院丁义涛团队和中国科学院生物化学与细胞生物学研究所、药物研究所合作<sup>[10]</sup>,采用转分化来源的人肝样细胞构成的生物人工肝系统对急性肝衰竭猪进行了救治,显著提升了肝衰竭猪的存活率。

近年来生物人工肝的研究具有较大进展,一些国外的生物人工肝产品陆续开展了临床试验,有的已经进入临床III期(例如美国Vital Therapies Inc公司,VTI公司),但尚未有生物人工肝产品能够到达III期临床终点。对这些临床试验的失败有众多分析,包括生物人工肝装置中肝细胞的功能不足,以及对临床适应症选择、治疗模式、炎症控制、胆汁排泄

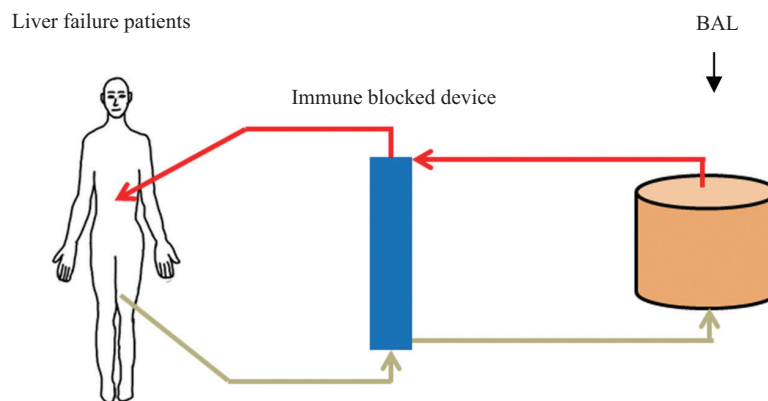


图1 生物人工肝的模式图

Fig.1 Schematic figure of bioartificial liver system

等临床方案的选择等。但是,目前的共识是进入临床研究的生物人工肝产品中种子细胞的功能有限。本综述将分别就生物人工肝的种子细胞、生物反应器和目前的临床研究进展进行讨论。

### 3 种子细胞

生物人工肝救治肝衰竭患者的关键在于其生物成分——功能肝细胞。理想的生物人工肝种子细胞应满足功能、数量与安全性三方面的要求。此外,种子细胞还应是人源性的、易获取的、可快速和稳定地增殖的,具有能在体外稳定完成合成和解毒代谢功能等特点。

目前用于生物人工肝研究的种子细胞来源主要有五大类:动物源肝细胞、肿瘤来源肝细胞、永生化的肝细胞、人原代肝细胞、多能干细胞分化和转分化技术获得的肝细胞(表1)。

#### 3.1 动物源肝细胞

猪来源的原代肝细胞曾被用在HepatAssist生物人工肝系统上,并进行了相关临床试验,显示能够提高肝衰竭患者的生存率<sup>[11-12]</sup>。浙江大学医学院李兰娟院士团队<sup>[13-14]</sup>采用猪肝细胞的生物人工肝系统,进行了小型猪肝衰竭的治疗实验,延长了肝衰竭猪的存活时间。尽管猪肝细胞的代谢能力与人原代肝细胞的代谢能力相近,但是异源物种肝细胞的采用,始终无法保证生物人工肝系统治疗患者的安全性。这些猪来源的细胞在临床应用后存在动物来源病毒感染的风险<sup>[15]</sup>。出于安全性考虑,欧洲已经禁止了采用猪肝细胞的生物人工肝系统。

#### 3.2 肿瘤来源肝细胞

该类细胞可以体外大量扩增,满足生物人工肝

种子细胞的数量要求。在美国的生物人工肝系统(extracorporeal cellular therapy, ELAD)中使用人源的肝癌细胞系如HepG2-C3A细胞,在前期临床试验中取得了一定的效果<sup>[16]</sup>,但是ELAD在随后的2次III期临床试验均宣布失败<sup>[17]</sup>。由于肝癌细胞的肝功能已经有所丧失,笔者推测,HepG2-C3A细胞代谢解毒功能差可能是其III期大规模临床试验失败的原因之一。同时,肿瘤来源的肝细胞具有较大的安全风险,在临床治疗过程中如果发生肝细胞的泄露将会造成病人致癌隐患。

#### 3.3 永生化的肝细胞

永生化的技术使肝细胞大量增殖成为可能。目前,国内不少研究团队使用永生化的肝细胞来设计生物人工肝系统。如本文作者之一南方医科大学高毅教授<sup>[18]</sup>开发了人正常肝细胞来源的永生化的肝细胞HepGL,强化了肝细胞的氨代谢功能,作为BAL种子细胞前景较好。武汉全干生物科技有限公司采用L-02(HL-7702)作为种子细胞,与中空纤维生物反应器结合后治疗肝衰竭猪<sup>[18]</sup>。此外,北京中日友好医院的姜晋宁教授采用永生化的肝细胞IHH细胞系组建生物人工肝系统。然而,永生化的细胞表型、核型往往不稳定。因此,优化载体,解决重组酶基因残留,控制永生化的基因在体内表达,保证其生物安全性,是永生化的肝细胞面临的主要问题。

#### 3.4 人原代肝细胞

人原代肝细胞是从新鲜肝脏组织中分离获得的,能够保持较好的功能,如药物代谢和蛋白合成能力,因此理论上是最优的核心种子细胞。但是由于受到肝脏器官供应的限制,细胞来源有限;而且原代肝细胞在体外增殖能力有限,无法达到生物人工肝

表1 不同来源的种子细胞比较

Table 1 A comparison of obtained hepatocytes from different sources

| 名称                    | 动物源肝细胞                     | 肝癌细胞                  | 永生化的细胞系                | 原代肝细胞               | 干细胞                           | 转分化细胞                                    |
|-----------------------|----------------------------|-----------------------|------------------------|---------------------|-------------------------------|--|
| Name                  | Animal-derived hepatocytes | Liver carcinoma cells | Immortalized cell line | Primary hepatocytes | Stem cells                    | Direct reprogramming tech                |
| Source                | Porcine                    | Tumor                 | Immortalization        | Freshly isolation   | Differentiation of stem cells | Direct reprogramming of human fibroblast |
| Liver function        | Better                     | Poor                  | Poor                   | Best                | Better                        | Best                                     |
| Proliferation ability | Poor                       | Best                  | Best                   | Poor                | Poor                          | Best                                     |
| Accessibility         | Easier                     | Easy                  | Easy                   | Hard                | Easier                        | Easy                                     |
| Cost                  | Cheap                      | Cheap                 | Cheap                  | Expensive           | Expensive                     | Cheap                                    |
| Risk                  | High                       | High                  | Medium                 | Low                 | High                          | Low                                      |

治疗时的细胞数量,并且体外培养过程中很快失去功能。因此人原代肝细胞也难以作为生物人工肝的种子细胞。近年来利用退分化技术,使人原代肝细胞的体外规模化培养成为可能。如惠利健团队<sup>[19]</sup>成功地将人原代肝细胞利用特殊的培养基在低氧培养环境下扩增了10 000倍。鄢和新团队<sup>[20]</sup>成功地实现了人原代肝细胞在体外向肝前体细胞的转变和快速增殖,经定向诱导分化后,增殖的前体样肝细胞可重新获得成熟肝细胞的功能。Hans Clevers团队<sup>[21]</sup>利用3D类器官技术成功实现了人原代胚胎肝细胞的长期体外培养和扩增。这些均为以后原代肝细胞的规模化扩增用于生物人工肝种子细胞提供了新的可能。

### 3.5 多能干细胞分化和转分化获得的肝细胞

**3.5.1 多能干细胞分化获得的肝细胞** 人的多能干细胞(hPSCs),包括人胚胎干细胞(hESCs)以及诱导性多能干细胞(iPSC),具有多能性,能够诱导分化为肝细胞,为体外获得肝细胞提供了新思路<sup>[22-23]</sup>。这些细胞的优点在于来源稳定、没有伦理问题、细胞功能强大、非常接近于原代肝细胞。但是不能忽视的是,这些干细胞来源的肝样细胞往往分化效率低、诱导过程复杂、费用昂贵,还可能存在致癌风险。这些都限制了其成为生物人工肝种子细胞的潜能<sup>[24]</sup>。

**3.5.2 转分化获得的肝细胞** 直接转分化是指在一定条件下,将某一种成体终末分化细胞特定地转化为其他种类的终末分化细胞。例如,2014年,惠利健等<sup>[25]</sup>首次实现将人成纤维细胞直接转分化为人源性肝样细胞hiHep。该细胞同时具备多种肝特异性蛋白质表达和代谢解毒功能,并可以大规模扩增。hiHep应用于生物人工肝系统,成功救治了肝衰竭小型猪<sup>[10]</sup>。最近尝试利用hiHep细胞进行生物人工肝对肝衰竭患者的早期临床研究也达到了预期临床效果。这为生物人工肝的种子细胞来源提供了新的方向。

## 4 生物反应器

生物反应器是生物人工肝支持系统的核心要素之一,其性能直接关系到人工肝支持系统的治疗效果。生物反应器主要有两个作用:一是为肝细胞提供良好的生长附着环境,维持细胞的活力及功能;二是为患者血液或血浆与肝细胞之间提供物质交换

的空间,及时清除毒物,补充有益蛋白。

目前研究及应用的生物反应器主要有以下几种。(1)中空纤维生物反应器<sup>[26]</sup>:中空纤维反应器有内腔及外腔,常将肝脏细胞黏附于中空纤维的外腔,患者血液流经内腔,利用对流原理,实现患者血液与肝细胞的双向物质交换,这在生物人工肝系统中研究应用的较多,但由于肝细胞在生物反应器中分布不均,易造成堵塞;同时由于半透膜的存在导致物质交换效率低下。(2)支架生物反应器<sup>[27-28]</sup>:该生物反应器中,结合仿生生物支架材料,模拟肝细胞在体内的生长环境和状态,细胞呈三维培养模式,更大限度地提高肝细胞功能,且表面积与体积之比较高,能够承载较大的细胞容量。(3)多层平板生物反应器<sup>[29]</sup>:将细胞种植在平板上培养,多个平板叠加一起填充在筒体内。流入的液体可以均匀地分散到平板周围,与肝细胞充分交换后再回输到肝衰竭患者。其优点是细胞分布均匀,微环境一致,物质交换效率高。(4)微囊式流化床生物反应器<sup>[28]</sup>:细胞被包裹在海藻酸/壳聚糖微囊中,通过液体流动形成流化床。优点是将肝细胞制成微囊包裹,生长微环境较好,分布均匀;缺点是液体流动剪切力会对微囊造成损伤,肝细胞稳定性差,限制了肝细胞的物质交换效率。(5)模拟微重力反应器:NASA研制了模拟微重力的旋转式反应器<sup>[30]</sup>,装置的旋转运动可抵抗重力,从而使细胞保持在“模拟微重力”环境中。在该条件下,反应器内的细胞聚集在一起形成3D多细胞结构或团块。该生物反应器的优点是:物质交换良好,剪切力低,实现了细胞的规模化三维培养。

总之,对于开发新型生物反应器,一方面需要满足冻存细胞复苏后进行灌装,细胞能够快速贴壁,并保持功能,另一方面细胞与反应器之间需要具有较好的相容性,最大化地提高物质交换速率。

## 5 临床应用情况

在生物人工肝领域,目前几个技术都处于研发阶段,尚未有相关的产品上市。截至目前,进展最快的要数美国生物人工肝企业VTI公司,他们采用的是肝癌细胞HepG2-C3A作为生物人工肝的细胞源(ELAD),在2013年至2015年开展了临床III期试验。针对203名酒精性肝炎患者,随机对其中96名患者进行了ELAD治疗,107名作为对照。通过意向性分析,ELAD治疗组和对照组的总生存期无显著性差异

表2 国内外从事相关研究的主要机构

Table 2 The main institutions engaged in bioartificial liver system worldwide

| 机构名称  | 人工肝名称            | 人工肝类型                            | 细胞来源                              | 反应器类型                   |
|---|------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Institution name  | BAL name         | BAL style                        | Cell source                       | Bioreactor style        |
| Vital Therapies Inc, San Diego, USA                           | ELAD             | Non-biological and bioartificial | HepG2-C3A                         | Hollow-fiber            |
| Arbios System, Massachusetts, USA                             | HepatAssist      | Bioartificial                    | Pig hepatocyte                    | Hollow-fiber            |
| Academic Medical Center, University of Amsterdam, Netherlands | AMC-BAL          | Bioartificial                    | Pig hepatocyte                    | Hollow-fiber            |
| University of Pittsburgh, USA                                 | BLSS             | Bioartificial                    | Pig hepatocyte                    | Hollow-fiber            |
| Humboldt-University, Germany                                  | MELS             | Non-biological and bioartificial | Human/pig hepatocyte              | Hollow-fiber            |
| Wuhan Tong stem medical Polytron Tech. Inc., China            | HepAssis2        | Bioartificial                    | L-02 cell                         | Hollow-fiber            |
| Southern Medical University, China                            | ZhJ-series       | Non-biological and bioartificial | Immortalized cell (HepGL)         | Reciprocating perfusion |
| The first affiliated hospital, ZheJiang University, China     | Li-ALSS          | Bioartificial                    | Immortalized cell (HepLi4)        | Fluidized bed           |
| Suzhou Rui Lai Biotech Co., Ltd., China                       | BAL based on IHH | Non-biological and bioartificial | Immortalized cell (IHH)           | Cell perfusion          |
| Shanghai Hexcell Biotech Co., Ltd., China                     | HepaCure         | Non-biological and bioartificial | Direct reprogramming tech (hiHep) | Multilayer plate        |

(51.0% vs 49.5%), 该试验结果未达到其一级和二级治疗终点(治疗患者MELD分数在18~35之间, 无年龄上限), 宣告失败。但是如果选择治疗患者MELD分数小于28, 并且年龄低于基线均值的人群进行预设分析, ELAD治疗后可以提高患者91天的生存率(68.6% vs 53.6%,  $P=0.08$ )<sup>[17]</sup>。可见, 生物人工肝要想取得成功, 除了要具备功能良好的种子细胞, 在设计临床试验时, 选择合适的临床患者和设定合理的治疗终点也是非常重要的。

另外, 美国Arbios System公司研发的生物人工肝系统(HepatAssist), 使用猪肝细胞作为种子细胞, 也曾开展相关临床试验<sup>[12]</sup>。在171名急性/亚急性肝衰竭患者中, BAL治疗组虽然能够显著降低血清总胆红素的含量, 但是并未改善病人的神经系统, 而且30天的生存率和对照组无显著性差异(71% vs 62%)。同时, 由于该生物人工肝使用了动物源的肝细胞, 存在病毒传染的危险而争议较大。荷兰阿姆斯特丹医学中心研发的AMC-BAL生物人工肝系统, 采用猪原代肝细胞, 亲水聚酯矩正反应器, 已完成了I期临床试验, 救治了12例病人(11例超急性肝衰竭及1例急性肝衰竭患者), 其中11例病人经治疗后成功桥接至肝移植, 1例患者经过2次生物人工肝治疗后好转, 无

需进行肝移植<sup>[31-32]</sup>。目前该团队正在对肝细胞培养、氧合灌注等技术进行进一步优化, 准备开展后期临床试验。

国内生物人工肝的研究也如火如荼, 有多家单位开展了早期临床研究工作。比如武汉全干生物公司, 其人工肝系统HepAssis2使用来源于人的胎肝细胞L-02, 利用中空纤维生物反应器, 已进入到临床研究阶段。苏州瑞徠生物科技有限公司采用永生化人肝细胞IHH组建的生物人工肝系统完成2例临床病例治疗。上海微知卓生物科技有限公司利用hiHep肝样细胞研发了新型的血浆生物净化柱HepaCure, 能够起到代谢解毒及补充患者体内所需有益蛋白的作用, 也已经开展多例临床研究。表2对已有报道的国内外研发生物人工肝的情况进行了梳理。

综合以上来看, 作为1项应用前景广阔的新技术/产品, 目前国内外所有生物人工肝项目还处在研究和早期临床研究阶段。但是可以看出, 生物人工肝研究已经积累了大量数据和经验, 有望取得突破。功能良好的生物人工肝支持系统, 一方面需要核心种子细胞, 并能够实现体外大规模扩增, 从而达到临床治疗所需要的细胞数量级, 另一方面需要选择设计合理、材料优良的生物反应器, 保证功能肝细胞

功能的发挥和充分的物质交换, 这两方面的研究也将成为未来生物人工肝研发的重点方向。同时, 临床试验方案的合理设计, 包括病人入选标准的设定、疗效评定和统计方法的选择等, 都将对生物人工肝临床试验的成功起到重要作用。

### 参考文献 (References)

- International Journal of Epidemiology and Infectious Disease. Guideline for diagnosis and treatment of liver failure (2018 edition) 2018; 45(6): 379-87.
- Jalan R, Gines P, Olson JC, Mookerjee RP, Moreau R, Garcia-Tsao G, *et al.* Acute-on chronic liver failure. *J Hepatol* 2012; 57(6): 1336-48.
- Arroyo V, Moreau R, Jalan R, Gines P, Study E-CCC. Acute-on-chronic liver failure: A new syndrome that will re-classify cirrhosis. *J Hepatol* 2015; 62(1): S131-43.
- Hori M. Artificial liver: present and future. *Artif Organs* 1986; 10(3): 211-3.
- Larsen FS. Artificial liver support in acute and acute-on-chronic liver failure. *Curr Opin Crit Care* 2019; 25(2):187-91.
- Hu Wei, Gu Hanqin. Chinese journal of dialysis and artificial organs. *Chinese J Dialys Artif Organs* 2012; 23(4): 38-43.
- Yan Guosheng, Li Lili, Jiang Shaoli, Meng Song, Wu Chenchen. Clinical study of different adsorbents with dual plasma molecular adsorption system in the treatment of hepatic failure. *Chinese J Hepatol* 2019; 27(1): 51-5.
- Zheng Z, Li X, Li Z, Ma X. Artificial and bioartificial liver support systems for acute and acute-on-chronic hepatic failure: A meta-analysis and meta-regression. *Exp Ther Med* 2013; 6(4): 929-36.
- Ding YT, Qiu YD, Chen Z, Xu QX, Zhang HY, Tang Q, *et al.* The development of a new bioartificial liver and its application in 12 acute liver failure patients. *World journal of gastroenterology. World J Gastroenterol* 2003; 9(4): 829-32.
- Shi XL, Gao Y, Yan Y, Ma H, Sun L, Huang P, *et al.* Improved survival of porcine acute liver failure by a bioartificial liver device implanted with induced human functional hepatocytes. *Cell Res* 2016; 26(2): 206-16.
- Mullon C, Pitkin Z. The HepatAssist bioartificial liver support system: clinical study and pig hepatocyte process. *Expert Opin Investig Drugs* 1999; 8(3): 229-35.
- Demetriou AA, Brown RS, Jr., Busuttil RW, Fair J, McGuire BM, Rosenthal P, *et al.* Prospective, randomized, multicenter, controlled trial of a bioartificial liver in treating acute liver failure. *Ann Surg* 2004; 239(5): 660-7; discussion 7-70.
- Lv G, Zhao L, Zhang A, Du W, Chen Y, Yu C, *et al.* Bioartificial liver system based on choanoid fluidized bed bioreactor improve the survival time of fulminant hepatic failure pigs. *Biotechnol Bioeng* 2011; 108(9): 2229-36.
- Zhou P, Shao L, Zhao L, Lv G, Pan X, Zhang A, *et al.* Efficacy of fluidized bed bioartificial liver in treating fulminant hepatic failure in pigs: a metabolomics study. *Sci Rep* 2016; 6: 26070.
- Ichai P, Samuel D. Treatment of patients with hepatic failure: the difficult place of liver support systems. *J Hepatol* 2004; 41(4): 694-5.
- Ellis AJ, Hughes RD, Wendon JA, Dunne J, Langley PG, Kelly JH, *et al.* Pilot-controlled trial of the extracorporeal liver assist device in acute liver failure. *Hepatology* 1996; 24(6): 1446-51.
- Thompson J, Jones N, Al-Khafaji A, Malik S, Reich D, Munoz S, *et al.* Extracorporeal cellular therapy (ELAD) in severe alcoholic hepatitis: A multinational, prospective, controlled, randomized trial. *Liver Transpl* 2018; 24(5): 711.
- Gao Yi, Peng Qing. Forum on innovation of core elements and key technologies of bioartificial liver, 2018.
- Zhang K, Zhang L, Liu W, Ma X, Cen J, Sun Z, *et al.* *In vitro* expansion of primary human hepatocytes with efficient liver repopulation capacity. *Cell Stem Cell* 2018; 23(6): 806-19, e4.
- Fu GB, Huang WJ, Zeng M, Zhou X, Wu HP, Liu CC, *et al.* Expansion and differentiation of human hepatocyte-derived liver progenitor-like cells and their use for the study of hepatotropic pathogens. *Cell Res* 2019; 29(1): 8-22.
- Hu H, Gehart H, Artegiani B, López-Iglesias C, Dekkers F, Basak O, *et al.* Long-term expansion of functional mouse and human hepatocytes as 3D organoids. *Cell* 2018; 175(6): 1591-606, e19.
- Duan Y, Catana A, Meng Y, Yamamoto N, He S, Gupta S, *et al.* Differentiation and enrichment of hepatocyte-like cells from human embryonic stem cells *in vitro* and *in vivo*. *Stem Cells* 2007; 25(12): 3058-68.
- Si-Tayeb K, Noto FK, Nagaoka M, Li J, Battle MA, Duris C, *et al.* Highly efficient generation of human hepatocyte-like cells from induced pluripotent stem cells. *Hepatology* 2010; 51(1): 297-305.
- Starokozhko V, Groothuis GMM. Challenges on the road to a multicellular bioartificial liver. *J Tissue Eng Regen Med* 2018; 12(1): e227-36.
- Huang P, Zhang L, Gao Y, He Z, Yao D, Wu Z, *et al.* Direct reprogramming of human fibroblasts to functional and expandable hepatocytes. *Cell Stem Cell* 2014; 14(3): 370-84.
- Palakkan AA, Raj DK, Rojan J, Raj RGS, Anil Kumar PR, Muralaeeharan CV, *et al.* Evaluation of polypropylene hollow-fiber prototype bioreactor for bioartificial liver. *Tissue Eng Part A* 2013; 19(9-10): 1056-66.
- Bhatia SN, Underhill GH, Zaret KS, Fox IJ. Cell and tissue engineering for liver disease. *Sci Transl Med* 2014; 6(245): 245sr2.
- Lu J, Zhang X, Li J, Yu L, Chen E, Zhu D, *et al.* A new fluidized bed bioreactor based on diversion-type microcapsule suspension for bioartificial liver systems. *PLoS One* 2016; 11(2): e0147376.
- Chu XH, Shi XL, Feng ZQ, Gu JY, Xu HY, Zhang Y, *et al.* *In vitro* evaluation of a multi-layer radial-flow bioreactor based on galactosylated chitosan nanofiber scaffolds. *Biomaterials* 2009; 30(27): 4533-8.
- Ingram M, Techy GB, Saroufeem R, Yazan O, Narayan KS, Goodwin TJ, *et al.* Three-dimensional growth patterns of various human tumor cell lines in simulated microgravity of a NASA bioreactor. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 1997; 33(6): 459-66.
- van de Kerkhove MP, Di Florio E, Scuderi V, Mancini A, Belli A, Bracco A, *et al.* Phase I clinical trial with the AMC-bioartificial liver. *Int J Artif Organs* 2002; 25(10): 950-9.
- van de Kerkhove MP, Poyck PP, Deurholt T, Hoekstra R, Chamuleau RA, van Gulik TM. Liver support therapy: an overview of the AMC-bioartificial liver research. *Dig Surg* 2005; 22(4): 254-64.