

三维培养间充质干细胞成肝分化的表观遗传学特征

黄海纳, 余艳荣, 毕戩, 黄淼, 彭维杰

<https://doi.org/10.12307/2025.754>

投稿日期: 2024-09-23

采用日期: 2024-11-09

修回日期: 2024-12-05

在线日期: 2024-12-17

中图分类号:

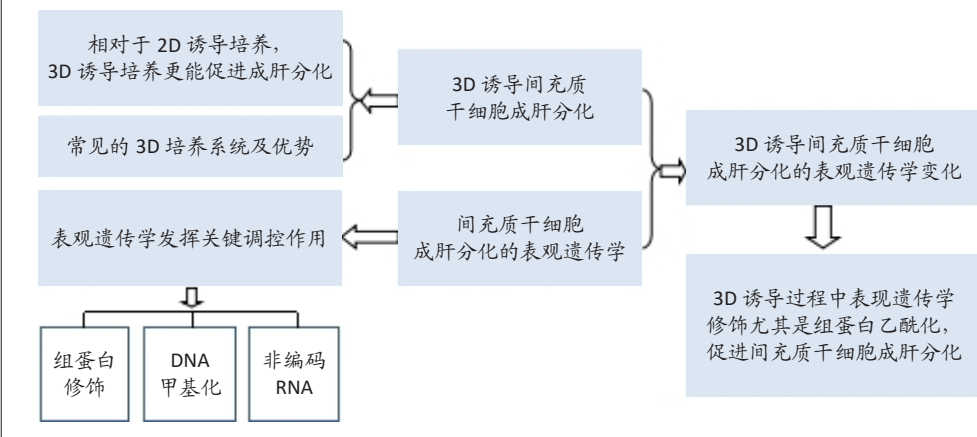
R458; R363; R329.2

文章编号:

2095-4344(2025)36-07848-08

文献标识码: A

文章快速阅读: 间充质干细胞成肝分化的表观遗传学调控机制



文题释义:

三维培养:是一种模拟细胞在体内生长的三维微环境的体外培养技术,相对于传统的二维培养,三维培养的细胞增殖分化、基因表达等都更接近于生理状态。

成肝分化:在培养系统中添加一定的细胞生长因子,将间充质干细胞诱导分化成肝细胞样细胞,生成的肝细胞样细胞具有成熟肝细胞的功能如白蛋白分泌、尿素合成等,肝细胞移植可用于肝脏疾病的替代治疗。

摘要

背景:间充质干细胞诱导的成肝细胞样细胞是很有前途的肝再生或肝脏组织工程的种子细胞,传统的二维培养成肝诱导效率低下,越来越多的研究集中在三维培养诱导成肝分化上。

目的:总结间充质干细胞成肝诱导的三维培养模型,重点讨论间充质干细胞成肝分化的表观遗传学调控机制研究进展,为提高间充质干细胞成肝分化的效率提供理论依据。

方法:检索PubMed数据库及中国知网等数据库收录的相关文献,英文检索词为“mesenchymal stem cells, 3D culture, hepatogenic differentiation, hepatocyte-like cells, epigenetics”,中文检索词为“间充质干细胞,三维培养,成肝分化,肝细胞样细胞,表观遗传学”,并结合文献溯源法查找部分文献进行综述分析。

结果与结论:①目前常见的间充质干细胞成肝分化的三维培养模型包括细胞球、生物支架、生物打印、微流控芯片等,它们在诱导成肝分化过程中各有优势和不足;②间充质干细胞成肝分化过程中表观遗传学调控起到关键作用,主要涉及组蛋白修饰、DNA甲基化、非编码RNA的调控等,不同的表观遗传修饰和机制相互作用,共同调节间充质干细胞成肝分化;③在三维培养条件下诱导间充质干细胞成肝分化过程中,表观遗传学修饰尤其是组蛋白乙酰化发挥了重要作用。未来,需要结合表观遗传学优化三维培养策略,提高成肝诱导效率。

关键词:间充质干细胞;三维培养;成肝诱导;肝细胞样细胞;表观遗传学;组蛋白乙酰化;综述

Epigenetic characteristics of hepatogenic differentiation of mesenchymal stem cells in three-dimensional culture

Huang Haina, Yu Yanrong, Bi Jian, Huang Miao, Peng Weijie

Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China

Huang Haina, Master candidate, Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China

Corresponding author: Peng Weijie, PhD, Professor, Doctoral supervisor, Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China

Abstract

BACKGROUND: Hepatocyte-like cells induced by mesenchymal stem cells are promising seed cells for liver regeneration or liver tissue engineering. The efficiency of traditional two-dimensional culture for hepatocyte induction is low, and more and more research is focused on three-dimensional culture for inducing hepatocyte differentiation.

赣南医科大学,江西省赣州市 341000

第一作者: 黄海纳, 女, 1999年生, 江西省吉安市人, 汉族, 赣南医科大学在读硕士, 主要从事干细胞与组织工程的相关研究。

通讯作者: 彭维杰, 博士, 教授, 博士生导师, 赣南医科大学, 江西省赣州市 341000

<https://orcid.org/0009-0002-5086-9639>(黄海纳); <https://orcid.org/0000-0003-0019-010X>(彭维杰)

基金资助: 国家自然科学基金项目(32460236), 项目负责人: 彭维杰; 江西省研究生创新专项课题(YC2023-S935), 项目负责人: 黄海纳

引用本文: 黄海纳, 余艳荣, 毕戩, 黄淼, 彭维杰. 三维培养间充质干细胞成肝分化的表观遗传学特征 [J]. 中国组织工程研究, 2025, 29(36):7848-7855.



OBJECTIVE: To summarize three-dimensional culture models for the hepatic induction of mesenchymal stem cells, focus on research progress on the epigenetic regulation mechanisms of mesenchymal stem cell hepatogenic differentiation, providing a theoretical basis for improving the differentiation efficiency of mesenchymal stem cells.

METHODS: Relevant articles in the PubMed and other databases such as CNKI were searched, using Chinese and English search terms “mesenchymal stem cell, 3D culture, hepatogenic differentiation, hepatocyte-like cells, epigenetics.” Additionally, the literature tracing method was employed to find some of the literature for a comprehensive review and analysis.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Common three-dimensional culture models for the hepatogenic differentiation of mesenchymal stem cells currently include spheroids, biological scaffolds, bioprinting, and microfluidic chips. Each of these models has its own advantages and disadvantages in the process of inducing hepatogenic differentiation. (2) During the differentiation of mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells, epigenetic regulation plays a key role, primarily involving histone modification, DNA methylation, and the regulation of non-coding RNAs. (3) Under three-dimensional culture conditions, epigenetic modifications, especially histone acetylation, play an important role in promoting the hepatogenic differentiation of mesenchymal stem cells.

Key words: mesenchymal stem cell; three-dimensional culture; hepatogenic induction; hepatocyte-like cell; epigenetics; histone acetylation; review

Funding: National Natural Science Foundation of China, No. 32460236 (to PWJ); Jiangxi Province Graduate Innovation Special Project, No. YC2023-S935 (to HHN)

How to cite this article: HUANG HN, YU YR, BI J, HUANG M, PENG WJ. Epigenetic characteristics of hepatogenic differentiation of mesenchymal stem cells in three-dimensional culture. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2025;29(36):7848-7855.

0 引言 Introduction

各种原因导致的肝脏疾病严重威胁着患者的生命健康^[1]。肝脏移植是治疗终末期肝病的有效方法，但供肝严重短缺、费用昂贵、终身免疫抑制等问题仍然存在^[2]。肝细胞移植被认为是治疗肝病的替代方法，人原代肝细胞是体外肝细胞移植的理想细胞，但由于存在来源匮乏、体外增殖难和肝功能易丧失等问题，限制了它的广泛使用^[3-4]。所以，寻找一种功能性人源肝细胞样细胞用于肝病的替代治疗十分重要。

间充质干细胞是具有自我更新和多向分化潜能的成体干细胞，极易在体外扩增和培养^[5]。间充质干细胞来源于中胚层，在诱导分化过程中加入细胞生长因子等，可激活相关信号通路，从而实现跨胚层分化。21 d 诱导法是目前最常用的诱导方法，在起始阶段，通过使用表皮生长因子、碱性成纤维细胞生长因子等激活 Wnt/ β -catenin 通路启动间充质干细胞向内胚层谱系分化^[6]；在分化阶段，加入成纤维细胞生长因子、肝细胞生长因子、烟酰胺等，内胚层细胞向肝祖细胞分化^[7]，通过激活转化生长因子 β 和肝细胞生长因子/c-Met 信号通路促进向肝细胞分化；最后是肝细胞的成熟阶段，加入抑瘤素 M、胰岛素转铁蛋白硒和地塞米松等因子，激活 PI3K/Akt、JAK/STAT3 等信号通路促进肝细胞成熟^[8-9]。从间充质干细胞分化而来的肝细胞样细胞 (hepatocyte-like cells, HLCs) 是很有前途的肝再生或组织工程的种子细胞，正在成为疾病治疗、药物筛选和毒性测试等领域的重要工具^[10]。然而，传统的二维 (two dimensional, 2D) 培养诱导产生的肝细胞样细胞仍处于未成熟状态，其分化程度低下和功能不成熟限制了它们在基础研究和临床研究中的使用。为了克服 2D 诱导的局限性，越来越多的研究集中在三维 (three dimensional, 3D) 培养间充质干细胞诱导分化为功能性肝细胞的开发和优化上。相比于 2D 诱导，3D 诱导很好地模拟了体内微环境，提高了肝细胞样细胞的成熟度和功能性，满足药物筛选、疾病模型及细胞移植的需求。

表观遗传学是研究基因表达调控的重要领域，其核心观点是不改变 DNA 序列，涉及基因表达的可遗传变化^[11]，这种调控机制包括组蛋白的修饰、DNA 甲基化以及非编码 RNA 的作用等^[12]。在间充质干细胞成肝分化的过程中，

这些表观遗传学机制共同作用，调控基因表达，使得干细胞逐渐向肝细胞分化，并获得肝细胞的特征。培养环境能够引发包括 DNA 甲基化水平的变化、组蛋白修饰的动态调整及非编码 RNA 表达改变等一系列复杂的表观遗传学响应。通过深入了解这些调控机制，可以优化 3D 培养策略来促进间充质干细胞的成肝分化，为肝脏疾病提供新的治疗思路。该文章讨论了间充质干细胞诱导成肝细胞样细胞的 3D 培养方法，总结了成肝分化的表观遗传学研究进展，将重点放在 3D 培养如何通过表观遗传学调控来促进间充质干细胞成肝分化，为肝脏组织工程和干细胞再生医学的发展提供参考依据。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在 2024 年 8 月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 2000 年 8 月至 2024 年 8 月。

1.1.3 检索数据库 检索 PubMed、中国知网和万方数据库等。

1.1.4 检索词 英文检索词为 “mesenchymal stem cells, 3D culture, hepatogenic differentiation, hepatocyte-like cells, epigenetics”，中文检索词为 “间充质干细胞，三维培养，成肝分化，肝细胞样细胞，表观遗传学”。

1.1.5 检索文献类型 研究原著和综述类文章。

1.1.6 手工检索情况 阅读相关文献，手工检索文献中的经典参考文献。

1.1.7 检索策略 运用布尔逻辑运算符 “OR” 和 “AND” 分别将检索词连接并进行检索。以 PubMed 和中国知网数据库检索策略为例，见图 1。

1.1.8 检索文献量 最终检索获得文献 530 篇，包括英文文献 435 篇、中文文献 95 篇。

1.2 入选标准

1.2.1 纳入标准 ①入选文献内容与间充质干细胞成肝分化、表观遗传学具有高度相关性；②研究内容主要描述 3D 培养在诱导间充质干细胞成肝分化中的作用；③权威杂志发表的期刊论文和学位论文。

1.2.2 排除标准 ① Meta 分析；②重复性研究和低质量文献。

PubMed 数据库	中国知网
#1 Mesenchymal stem cells	#1 间充质干细胞
#2 3D culture	#2 三维培养
#3 Hepatogenic differentiation OR Hepatocyte-like-cells	#3 成肝分化 OR 肝细胞样细胞
#4 Epigenetic OR Epigenetics	#4 表观遗传学
#5 #1 AND #3	#5 #1 AND #3
#6 #1 AND #2 AND #3	#6 #1 AND #2 AND #3
#7 #1 AND #3 AND #4	#7 #1 AND #3 AND #4
#8 #1 AND #2 AND #3 AND #4	#8 #1 AND #2 AND #3 AND #4

图 1 | 中英文数据库检索策略图

1.3 文献质量评估及数据提取 通过阅读文献的标题和摘要排除不符合纳入标准的文献，并结合文献追溯法查找遗漏文献，通读全文后确定保留的文献以进行深入研究，最终确定 70 篇文献进行总结归纳分析。文献筛选流程图，见图 2。

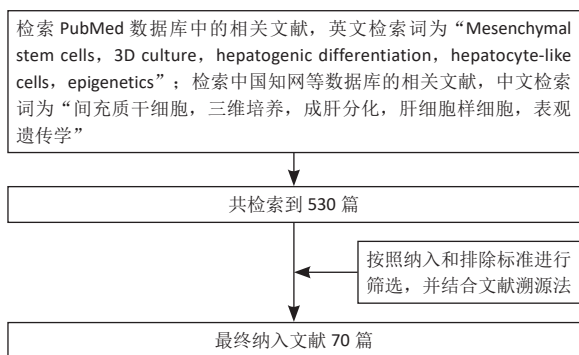


图 2 | 文献筛选流程图

2 结果 Results

2.1 间充质干细胞成肝分化的研究时间轴 见图 3。

2.2 间充质干细胞诱导分化成肝细胞样细胞的 3D 培养系统 诱导间充质干细胞成肝分化的 3D 培养系统是将细胞培养在 3D 空间内，从而更好地模拟肝脏微环境，这有助于提高分化效率和肝细胞样功能的表型。相对于 2D 培养，3D 培养系统在模拟体内环境、促进细胞相互作用、提高肝功能等方面具有明显优势，见表 1，为肝脏组织工程、药物筛选和肝脏疾病的治疗提供了新的策略和方法。目前开发了各种 3D 培养系统用于间充质干细胞的成肝分化，常见的成肝诱导 3D 培养模型包括细胞球、生物支架、生物打印、微流控芯片等，见图 4。

2.2.1 细胞球 主要通过限制外部环境或者利用物理力如重力聚集等方式将细胞局限在有限空间内，增加细胞之间的相互接触，使细胞依靠它们之间的黏附分子自发聚集成球，这些细胞聚集体被认为可以很好地模拟天然组织微环境结构和功能特征^[13]。常见的细胞成球方式有悬滴法、旋转培养法或搅拌法以及低吸附自聚集等^[14-15]。细胞球具有特殊的立体 3D 结构，从细胞球表面至细胞球中心，一定程度上模拟肝小叶从汇管区至中央静脉存在的氧气、营养物质浓度梯度，是一种良好的肝细胞 3D 培养模式^[6, 16-17]。OKURA 等^[18]在细胞球培养系统中，将脂肪来源间充质干细胞诱导成肝细胞球，这些细胞球展现出典型的成熟肝细胞功能特征，包括白蛋白的表达与分泌、



图 3 | 间充质干细胞成肝分化的研究时间轴

表 1 | 2D 诱导与 3D 诱导间充质干细胞成肝分化的比较

特征	2D 诱导	3D 诱导
细胞形态	细胞在单层平面上贴壁生长，缺乏体内环境模拟，呈现单一扁平状	细胞立体生长，更接近体内环境，呈现不规则多边形或球形
细胞连接	细胞大多单独生长或发生少量聚团	含有大量的细胞-细胞、细胞-细胞外基质相互作用的 3D 网络
细胞分化效率	成肝分化效率较低	成肝分化效率更高
肝特异性蛋白和肝特异性基因	低表达肝细胞特异性蛋白，下调肝特异性基因	表达成熟肝细胞特异性蛋白，上调肝脏特异性基因
糖原储存和尿素合成	糖原储存和尿素合成能力低	糖原储存和尿素合成能力高，并具有细胞色素 P450 相关蛋白介导的药物代谢能力

尿素的合成、细胞色素 P450 酶活性，以及对低密度脂蛋白的摄取和糖原的储存能力。进一步将这些具备肝细胞特征的细胞球移植到肝损伤小鼠体内，可显著提升血清中白蛋白含量及总胆红素水平，显示出良好的治疗潜力。相对于 2D 单层诱导，细胞球培养具有更为成熟的肝功能和更高的肝特异性基因的表达^[19-20]。总之，细胞球可以显著增强成肝效应且操作简单，成本较低且不需要考虑

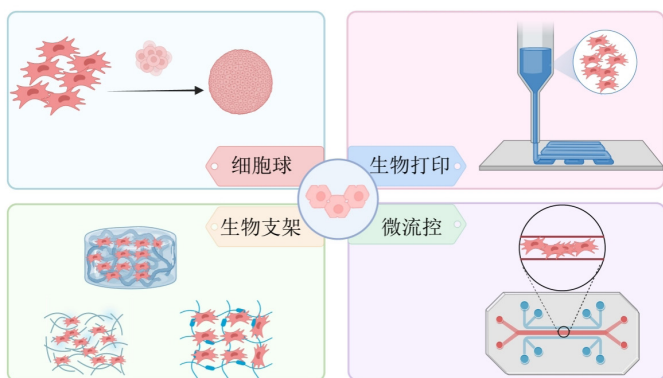


图4 | 常见的间充质干细胞诱导分化成肝细胞样细胞的3D培养系统示意图

组织相容性。但是,这种微球模型也存在一定的局限性,如球尺寸的大小、存在缺氧坏死核心、缺乏营养物质和代谢物交换系统等。

2.2.2 生物支架 在类似脚手架结构的支架上进行细胞培养,这些支架具有的孔隙结构、表面活性、机械强度及生物相容性有利于干细胞的黏附、增殖与分化^[21-22]。通过控制3D支架的材料特性,如机械性能、孔隙率、化学功能化及几何形态,可模拟肝脏组织的微环境^[23-24]。目前,研究者已开发出多种基于不同支架材料的3D培养系统,以提供一个重现肝脏生理微环境的平台,有效促进了间充质干细胞的肝向分化。常用的支架材料包括水凝胶、胶原和纳米纤维等。**①水凝胶支架:**ASADI等^[25]将脱细胞外基质水凝胶用于脂肪间充质干细胞的成肝分化,结果显示出高水平的白蛋白和尿素生成,且生成的肝细胞片可维持肝细胞功能。WANG等^[26]利用功能化细胞外基质微孔水凝胶进行成肝诱导,其白蛋白分泌远远高于传统的2D培养。XU等^[27]将间充质干细胞接种到丝素蛋白基质支架上生成类肝细胞,移植到急性肝衰竭小鼠体内展示出明显的治疗效果。**②胶原支架:**ALEAHMAD等^[28]研究发现,在3D支架中分化的肝细胞具有更接近成熟肝细胞的功能。相较于2D培养系统,3D支架增强了成肝诱导的效果。例如,采用胶原蛋白涂层的聚乳酸-乙醇酸3D支架进行间充质干细胞成肝诱导,与2D单层诱导相比,表现出更高的肝细胞特异性标记物的mRNA和蛋白水平表达^[29]。**③纳米纤维支架:**在3D纳米纤维支架上产生的间充质干细胞来源肝细胞样细胞高表达白蛋白和尿素,支架结构不仅提供了物理支撑,使细胞能够保持其天然形态并维持细胞间连接,而且其独特的结构有助于模拟Disse空间,为成肝分化提供了一个理想的微环境^[30]。以上这些结果揭示了生物支架促进成肝分化效应的巨大潜能。然而,尽管各种各样的支架材料在成肝细胞培养中显示出了良好的结果,但其生物相容性要求高,细胞毒性等因素使得支架材料需要进一步改良,才能更好地应用于肝脏组织工程。

2.2.3 生物打印 生物打印是组织工程领域的一种增材制造技术,这项技术将负载细胞的生物材料作为生物墨水,在计算机辅助下按特定空间排列逐层沉积^[31-32]。3D生物打印技术可以再现复杂的3D结构与微环境,较传统的2D培养模型可更好地维持细胞存活与功能^[33]。LEE等^[34]

采用胶原蛋白/细胞外基质、藻酸盐作为生物墨水,负载人脂肪间充质干细胞通过3D生物打印技术构建功能性人源肝细胞,结果表明诱导产生的肝细胞样细胞可以发挥白蛋白分泌、尿素合成等成熟肝细胞功能。ZHANG等^[35]通过模拟肝小叶结构,负载脂肪间充质干细胞制造了一个3D打印的血管化微型肝脏,植入急性肝损伤小鼠体内时展示出良好的治疗效果。通过3D生物打印技术构建的具有血管网络和细胞外基质的肝组织,能够更接近真实肝脏的功能,有助于模拟肝脏的生理和病理状态。然而,生物打印技术目前仍面临着许多技术挑战,如打印速度、分辨率、生物材料选择和细胞活力的保持等。用于3D生物打印的生物墨水需要具有良好的生物相容性和生物降解性,以确保打印出的组织能够与宿主组织整合。目前,开发理想的生物墨水仍然是一个难题。总之,3D生物打印在肝损伤修复中具有巨大的应用潜力,有望未来实现临床转化,这将为肝脏组织工程的发展带来了新希望。

2.2.4 微流控 微流控技术是以微流控芯片为载体,在连续灌注的微米级通道中培养细胞,进而模拟体内组织器官的生理代谢^[36]。微流控系统使新鲜培养基连续流动,有助于不断清除代谢废物,从而提供一个稳定的微环境,在较长的培养时间内维持细胞活力和功能^[37]。微流控芯片可以精确控制细胞培养的环境,提供稳定的营养和氧气供应^[38]。芯片中的微通道可以模拟肝脏的微血管网络,促进向肝分化。微流控芯片中的流体剪切应力类似于血压效应,在肝组织发育中很重要^[39]。YEN等^[39]构建了一个5层微流控装置,可以保持恒定的流速和均匀的介质流动,有效应用于间充质干细胞的成肝分化。总之,微流控系统可以有效控制单个细胞的周围环境,使其更接近体内微环境,提高了成肝分化效应,然而也存在成本高、操作复杂等问题。微流控芯片的尺寸有限,可能限制了大规模的细胞培养且实验仍然受限于细胞本身的特性和分化潜能。

2.3 间充质干细胞成肝分化的表观遗传学 间充质干细胞向肝细胞分化的过程中,表观遗传学调控起到关键作用。表观遗传学是指基因的核苷酸序列不发生改变而基因表达发生了可遗传变化,这种变化是在染色质水平上的基因表达,取决于染色质的变化形式^[12, 40]。表观遗传学被认为是基因型和表型之间的桥梁,并为调节细胞分化、发育和组织再生等关键生物学特征提供了框架^[41]。表观遗传学涉及许多复杂的调控机制,包括DNA甲基化、组蛋白修饰和非编码RNA等,这些机制相互作用共同参与调控干细胞分化的命运^[42-43]。例如,组蛋白修饰酶会影响微小RNA的表达。组蛋白修饰引起的染色质结构的动态变化同时影响DNA甲基化,两者相互作用,共同决定特定基因的转录活性。组蛋白修饰会影响细胞内信号通路,这些通路中某些分子可能参与长链非编码RNA的转录调控。过去的几年中,大多数研究调查了表观遗传学对于间充质干细胞诱导成肝分化的影响。

2.3.1 组蛋白修饰 组蛋白修饰是间充质干细胞成肝分化过程中的一个关键表观遗传学机制,可通过影响组蛋白与DNA双链的亲合性来影响染色质的构象和稳定性,进

一步改变染色质对参与转录蛋白质的可及性,这种调控作用在调节基因表达和细胞功能方面发挥着至关重要的作用^[44]。组蛋白的修饰位点较多,其中研究最早最透彻的是组蛋白乙酰化修饰。组蛋白乙酰化是在乙酰转移酶和组蛋白去乙酰化酶共同动态调控下,使得DNA链变得松弛,从而改变染色质的构象,调控基因的激活与转录^[45]。当前研究主要聚焦于探讨组蛋白去乙酰化酶抑制剂如丙戊酸、丁酸钠以及曲古抑素A在干细胞向肝细胞诱导分化过程中的作用机制。CHEN等^[45]研究发现丙戊酸处理组肝脏特异性标志物的表达在mRNA和蛋白水平显著上调,增强了分化细胞的肝功能,包括糖原储存、细胞色素P450活性、分泌白蛋白以及产生尿素,这表明使用组蛋白去乙酰化酶可以显著促进人骨髓间充质干细胞的成肝分化。DONG等^[46]研究发现丙戊酸在促进骨髓间充质干细胞向肝细胞分化的过程中,主要通过增强组蛋白H3和H4的乙酰化修饰,提高DNA对核酸酶的敏感性,以及促进染色质结构解聚等表观遗传学变化,使得相关肝脏特异性基因更易被转录因子所识别,从而增加了转录活性。进一步研究发现,丙戊酸在H3K14、H4K8乙酰化上调,促进了参与脐带间充质干细胞成肝分化基因的早期转录^[47],同时也增强了部分miRNA的表达,这些miRNA通常在胎儿肝脏发育过程中上调,例如miR-23b簇(miR-27b-3p、miR-24-1-5p和miR-23b-3p)、miR-30a-5p、miR-26a-5p、miR-148a-3p、miR-192-5p和miR-122-5p,提高了成肝分化效率^[47],这表明不同表观遗传机制之间存在相互作用,它们共同影响基因表达。AN等^[48]研究发现通过提升CXCR4基因启动子区域组蛋白乙酰化水平,可以激活AKT与ERK信号传导途径,从而促进了内胚层相关基因包括CXCR4、Sox17、FOXA1、Foxa2、GSC、c-met、EOMES及HNF- β 的表达,有效推动了位于中胚层脐带间充质干细胞向内胚层肝细胞方向的分化。PANTA等^[49]诱导脐带间充质干细胞成肝分化前用丁酸钠预处理显著提升了成熟肝细胞功能,包括白蛋白分泌、角蛋白18表达、糖原储备及尿素合成能力。有研究认为丁酸钠是通过增强H4K5乙酰化水平,提高SOX17和HNF3 β 等内胚层特异性基因,促进脐带间充质干细胞向内胚层分化。

综上所述,通过抑制组蛋白去乙酰化作用,可以增强染色质的乙酰化状态,进而改变染色质结构并调控成肝分化相关基因表达,有效促进间充质干细胞向肝细胞转化。然而,目前关于组蛋白修饰主要集中在组蛋白乙酰化方面,对于其他类型的组蛋白修饰及其特定修饰位在间充质干细胞成肝分化中的作用了解仍然有限。因此,后续研究应着重探讨组蛋白乙酰化在间充质干细胞肝向分化过程中所涉及的信号传导途径、关键修饰位点,组蛋白乙酰化与成肝分化阶段诱导因子之间的相互作用以及不同组蛋白修饰间的相互关系,深入解析表观遗传学在调控间充质干细胞成肝分化中的机制。

2.3.2 DNA甲基化 在间充质干细胞成肝分化过程中,DNA甲基化发挥着重要作用。DNA甲基化是指在甲基转移酶家族的作用下将甲基转移到胞嘧啶C5位上形成5-甲基胞嘧啶^[50]。一方面,甲基化状态的改变影响基因的

直接表达;另一方面,它还可能通过改变染色质的开放程度间接影响基因表达。去甲基化可能激活肝细胞特异性基因的表达,而甲基化可能抑制与间充质干细胞分化特性相关的基因。DNA甲基转移酶在染色质重塑和基因表达调控起着至关重要的作用。研究表明DNA甲基转移酶抑制剂显著提高了细胞代谢I/II期酶活性以及肝脏富集转录因子在不同细胞系(如HeLa细胞、人肝癌细胞系或小鼠肝细胞)中的表达^[51]。肝细胞样细胞的表观遗传变化是通过抑制DNA甲基转移酶并导致DNA序列去甲基化,从而使成肝分化过程中基因转录更为容易,促进间充质干细胞成肝分化。例如,SEELIGER等^[52]通过使用5-氮杂胞苷(DNA甲基转移酶抑制剂)降低细胞全局甲基化状态来启动脂肪间充质干细胞成肝分化,显著提高了生成的肝样细胞色素酶活性,并具有与人原代肝细胞类似的尿素代谢能力。DNA甲基化受到表观遗传修饰网络调控,主要是在染色质水平通过影响转录因子与DNA的接触对基因转录活性进行调节。抑制基因表达通常与DNA甲基化和致密的染色质结构有关,而主动转录与未甲基化的DNA和高乙酰化染色质有关^[53-54]。因此,DNA甲基化和组蛋白乙酰化之间存在紧密的相关性,DNA甲基转移酶和组蛋白去乙酰化酶在调节细胞稳态方面具有协同作用。最新的研究表明,表观遗传修饰剂(丙戊酸和5-氮杂胞苷)与小分子(丹酚酸B、地塞米松和胰岛素)联合使用,无需使用生长因子即可有效启动人脐带间充质干细胞的肝脏分化,进一步提高成肝分化效率^[55]。

综上所述,DNA甲基转移酶抑制剂促进DNA去甲基化,从而增强基因表达。组蛋白修饰和DNA甲基化可共同调控间充质干细胞成肝分化过程,在此过程中多能干性基因逐渐被沉默,肝脏谱系特异性基因逐渐被激活。然而,目前关于DNA甲基化在间充质干细胞成肝分化中的作用相对较少,未来的研究需要更深入地探究甲基化变化与成肝分化之间的具体联系。此外,探索调节这些甲基化变化的潜在干预策略,可能为肝脏替代治疗提供新的途径。

2.3.3 非编码RNA 除了组蛋白修饰和DNA甲基化,非编码RNA也可以调控间充质干细胞的成肝分化。非编码RNA是一种功能性非蛋白编码的RNA分子,通过促进mRNA降解或减弱蛋白质翻译来调节基因表达。miRNA在肝脏的多个生理和病理过程中起关键作用。在转录后水平,miRNA是干细胞分化过程中控制细胞命运的关键参与者,可以直接将间充质干细胞转化为肝细胞样细胞。例如,ZHOU等^[56]发现在不添加细胞因子的情况下脐带间充质干细胞中5种miRNA的组合可以在7d内诱导成功能性肝细胞。miR-122作为肝脏特异性miRNA,在成人肝脏中的表达最高,约占所有miRNA的70%^[57]。miR-122通过靶向肝脏特异性基因转录因子,在肝功能和病理发展的调节中起着重要作用。研究表明,miR-122可以刺激肝细胞特异性基因和大多数肝细胞富集转录因子的表达,形成正反馈回路并在体外诱导肝细胞分化^[58],同时在间充质干细胞的肝向诱导分化过程中miR-122的含量是逐渐增加的,二者呈现相辅相成的作用。敲低Let-7f miRNA可上调HNF4 α 促进间充质干细胞成肝分化^[59]。

miR-122-5p 可下调干性基因 SOX11 和 VIM 的表达, 促进内胚层分化^[59]。与传统细胞因子诱导的细胞相比, 在细胞中过表达 miR-106a、miR-574-3p 和 miR-451 可表达更高水平的白蛋白、角蛋白 18 和 HNF4a^[60]。转染 miR-122 的间充质干细胞在四面体 DNA 纳米平台上可被诱导成功能性肝细胞, 体内移植可挽救急性肝衰竭小鼠生命^[61]。长链非编码 RNA 是一类长度大于 200 个核苷酸且不能编码蛋白质的 RNA, 与细胞增殖、分化和凋亡等生物过程密切相关^[62], 通过干预某些长链非编码 RNA 的表达可以促进干细胞分化。长链非编码 RNA 参与 Wnt/ β -catenin 信号转导, 可以影响成肝分化的进程^[63-64]。YU 等^[65]发现间充质干细胞成肝分化过程中长链非编码 RNA UCA1 呈高表达, 过表达 UCA1 后显著促进成肝分化。王丹丹等^[66]研究发现长链非编码 RNA NEAT1 抑制了脐带间充质干细胞肝向分化。

综上所述, miRNA 和长链非编码 RNA 均可以介导间充质干细胞成肝分化。一种或几种特异性 miRNA 可用于将间充质干细胞诱导分化为功能性肝细胞。然而, miRNA 在此诱导过程的分子机制未见报道, 深入探索其分子机制有利于优化肝细胞诱导方案。长链非编码 RNA 在成肝分化过程中发挥重要作用, 特定的长链非编码 RNA 可以调控肝细胞特异性基因的表达, 进而影响成肝分化进程, 深入研究长链非编码 RNA 在成肝分化中的具体作用机制, 可有助于开发新策略促进成肝分化, 也为肝脏疾病的治疗提供了新的视角和潜在的靶点。

表观遗传学与间充质干细胞成肝分化的相关研究, 见表 2。

表 2 | 表观遗传学与间充质干细胞成肝分化的相关研究

第一作者	发表年份	调控类型	处理方法	表达量	调控结果
CHEN ^[45]	2009	组蛋白乙酰化	丙戊酸	乙酰化水平上调	促进间充质干细胞成肝分化
DONG ^[46]	2013	组蛋白乙酰化	丙戊酸	乙酰化水平上调	
AN ^[48]	2014	组蛋白乙酰化	丙戊酸	乙酰化水平上调	
RAUT ^[47]	2016	组蛋白乙酰化	丙戊酸	乙酰化水平上调	
PANTA ^[49]	2019	组蛋白乙酰化	丁酸钠	乙酰化水平上调	
SEELIGER ^[52]	2013	DNA 去甲基化	5 氮杂胞苷	甲基化水平下调	
TARIQUE ^[55]	2022	DNA 去甲基化、组蛋白乙酰化	丙戊酸、5-氮杂胞苷	乙酰化水平上调、甲基化水平下调	
CIPRIANO ^[51]	2017	DNA 去甲基化、组蛋白乙酰化	曲古抑素 A、5-氮杂胞苷	甲基化水平下调、乙酰化水平上调	
DAVOODIAN ^[58]	2014	microRNA	miR-122	过表达	
DAVOODIAN ^[59]	2014	microRNA	Let-7f miRNA	沉默	
ZHOU ^[56]	2017	microRNA	miR-122、miR-148a、miR-424、miR-542-5p、miR-1246	过表达	
KHOSRAVI ^[60]	2018	microRNA	miR-106a、miR-574-3p、miR-451	过表达	
WEI ^[61]	2023	microRNA	miR-122	过表达	
YU ^[65]	2020	长链非编码 RNA	CUDR	过表达	
王丹丹 ^[66]	2022	长链非编码 RNA	NEAT1	干扰	
LI ^[64]	2019	长链非编码 RNA	HULC	过表达	

2.4 3D 诱导间充质干细胞成肝分化过程中的表观遗传学变化 3D 诱导能有效提升间充质干细胞向肝细胞方向的分化效率, 使得诱导后的肝样细胞展现出更为成熟的肝功能特征及更高水平的肝脏特异性基因表达。当前, 大

量研究聚焦于深入探讨 3D 诱导环境下间充质干细胞向肝细胞分化的潜在机制, 其中表观遗传学尤其是组蛋白乙酰化在分化过程中的调控作用受到关注。

在 3D 培养条件下诱导肝细胞分化的过程中, 表观遗传学修饰发挥了重要作用, 其中组蛋白乙酰化有助于转录因子与染色质的结合, 从而促进肝细胞分化。RASHID 等^[67]利用 3D 水凝胶支架对人类骨髓间充质干细胞进行成肝分化诱导, 结果表明在 3D 支架中分化的肝细胞展现出更成熟的特征; 此外, 只有在 3D 条件下观察到了成熟肝细胞特异性标志物——酪氨酸氨基转移酶 (TAT) 的表达上调, 进一步证明了 3D 诱导在肝细胞分化成熟度方面的优势。在 2D 与 3D 诱导过程中加入组蛋白去乙酰化酶抑制剂, 研究结果显示, 相较于 2D 诱导, 3D 诱导通过组蛋白乙酰化更有效地提升了肝脏特异性基因的表达水平, 并且在无需添加特定肝细胞生长因子的条件下, 3D 培养环境显著提高了肝细胞分化的效率^[68], 这表明培养环境能影响表观遗传学修饰, 进而影响肝脏基因的表达。与 2D 培养相比, 3D 培养更接近体内的微环境, 能激活类似于体内的细胞信号传导路径, 使得表观遗传学修饰作用更为显著。细胞球培养诱导的肝样细胞表现出更为成熟的肝细胞功能, 同时进行乙酰化修饰蛋白质组学检测发现, 与 2D 相比, 3D 细胞球诱导的肝样细胞中 H3K56 乙酰化水平显著升高, 且乙酰转移酶 p300 乙酰化水平也升高。3D 细胞球诱导可通过 p300 这一染色质调控组蛋白的 H3K56 乙酰化修饰, 促进了白蛋白基因的转录活性, 进而有效提升了间充质干细胞向肝细胞分化的诱导效率^[69]。总之, 以上研究结果表明不同培养维度可影响间充质干细胞的成肝分化, 这一过程与组蛋白乙酰化修饰密切相关。

研究表明, miRNA 参与调控间充质干细胞成肝分化, 然而高效的 miRNA 递送仍然面临着不稳定、细胞摄取率低、易生物降解、传递效率差等挑战, 最近有研究表明将 miRNA 与 3D 培养相结合, 可以提高递送效率, 增强成肝诱导效果。例如, LI 等^[70]设计了 Y 形 DNA 纳米结构结合 miRNA-122(Y-miR-122) 促进了间充质干细胞的成肝分化和成熟, 是一种很有前途的 miR-122 递送平台, 基于微流控技术的微凝胶封装细胞进行细胞移植避免了炎症微环境和细胞免疫排斥的影响, 而微凝胶的通透性允许营养和代谢物与外部环境交换, 同时 3D 微环境促进了细胞内细胞-细胞和细胞-基质相互作用。微凝胶支架也为维持细胞活力和血管化提供了最佳的 3D 条件, 在细胞治疗中提供更好的治疗效果。WEI 等^[61]研究发现, 与 miR-122 相比, 在四面体 DNA 纳米平台上结合 miR-122(TDN-miR-122) 显著上调成熟肝细胞标志物和肝特异性基因的表达, 表现出成熟肝细胞形态和表型; 四面体 DNA 纳米结构模拟了体内 3D 微环境, 提高了 miR-122 的细胞摄取效率。总之, 在 3D 培养条件下更有利于表观遗传学调控, miRNA 和 3D 培养环境之间的相互作用是一个复杂的过程, 它们相互影响, 共同调控细胞的行为和基因表达。通过深入研究这些相互作用, 可以更好地理解细胞在 3D 环境中的生物学行为, 并为组织工程和疾病治疗提供新的策略。

3D 培养条件下, 细胞内部表观遗传学调控网络发生

改变，这些变化进一步影响细胞分化的路径。通过深入剖析 3D 诱导间充质干细胞向肝细胞分化过程中的表观遗传学机制，可以进一步挖掘间充质干细胞分化的机制，并为优化干细胞向肝样细胞转化的效率和开发基于间充质干细胞的新型 3D 诱导策略提供全新的科研视角。

表观遗传学与 3D 诱导间充质干细胞成肝分化的相关研究，见表 3。

表 3 | 表观遗传学与 3D 诱导间充质干细胞成肝分化的相关研究

第一作者	发表年份	3D 诱导方法	处理方法	调控结果
RASHID ^[67]	2022	3D 支架	丁酸钠	3D 培养条件下组蛋白乙酰化可促进骨髓间充质干细胞成肝分化
RASHID ^[68]	2021	3D 支架	丙戊酸	在 3D 环境中，组蛋白乙酰化上调可促进骨髓间充质干细胞成肝分化
YU ^[69]	2024	细胞球	P300 激活剂 CTB、P300 抑制剂 A-485	3D 球体培养通过 p300 介导的 H3K56 乙酰化促进脂肪间充质干细胞成肝分化
Li ^[70]	2023	Y 形 DNA 纳米结构	miR-122	促进了间充质干细胞的成肝分化和成熟，基于液滴微流控技术增强了肝细胞样细胞的功能
WEI ^[61]	2023	四面体 DNA 纳米结构	miR-122	TDN-miR-122 显著上调成熟肝细胞标志物和肝细胞特异性标记基因

3 讨论 Discussion

3.1 既往他人在该领域研究的贡献和存在的问题 既往研究表明间充质干细胞有向内胚层分化的潜能，能被诱导成肝细胞样细胞；表观遗传学在间充质干细胞分化中起关键作用。传统的 2D 诱导功能性存在诸多局限性，限制了它的临床应用；3D 诱导为间充质干细胞提供了一个更有利于向肝细胞分化的环境，提高了间充质干细胞成肝分化效率和肝细胞的成熟度。然而，3D 诱导间充质干细胞成肝分化的具体机制、表观遗传学如何调控间充质干细胞成肝分化等问题仍需进一步深入研究。3D 诱导成肝分化过程中，需要血管化以维持营养供应和代谢废物的清除。目前，在 3D 培养环境中构建功能性血管网络仍然是一个挑战。3D 诱导成肝分化尚未实现标准化和规模化，这也限制了其在临床应用中的推广。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 目前已有文章对间充质干细胞的 3D 培养进行综述，但未见 3D 培养条件下诱导间充质干细胞向肝细胞分化的系统性综述。此文章深入探讨了 2D 与 3D 培养模式在诱导间充质干细胞肝向分化过程中的优劣，并梳理了常见的间充质干细胞 3D 诱导肝分化系统。相较于其他综述，此文章创新性地将间充质干细胞肝向分化与表观遗传学机制相融合，详细论述了表观遗传学在间充质干细胞成肝分化过程中的调控作用，综合归纳了 3D 诱导下间充质干细胞成肝向分化的表观遗传学改变。这一综述为深入理解间充质干细胞成肝向分化与表观遗传学之间的相互作用提供了新的视角。

3.3 综述的局限性 ①文章更多的是讨论间充质干细胞成肝分化的相关研究，较少讨论胚胎干细胞等其他细胞在成肝分化方面的研究；②目前研究间充质干细胞成肝分化的机制多样，此文章仅仅集中在表观遗传学；③对于 3D 诱导间充质干细胞的临床应用，如何实现临床转化还有待详细描述。

3.4 综述的重要意义 间充质干细胞来源的诱导性功能肝细胞具备蛋白合成、解毒和代谢活性能力，对急慢性肝衰竭等各类肝病患者具有重要的意义。文章主要综述了间充质干细胞诱导成肝细胞样细胞的 3D 培养方法，总结了间充质干细胞成肝分化的表观遗传学研究进展，将重点放在 3D 培养如何通过发挥表观遗传学调控来促进间充质干细胞成肝分化，有助于研究者更好地理解成肝分化过程中表观遗传机制如何发挥调控作用，基于表观遗传学更好地设计和开发新型 3D 诱导方案，为肝脏组织工程和干细胞再生医学的发展提供参考依据。

3.5 课题专家组对未来的建议 间充质干细胞具有强大的增殖能力和诱导分化成肝细胞样细胞的潜能，在肝脏组织工程和再生医学中潜力无穷。通过在体外诱导过程中使用各种培养方法可以促进间充质干细胞向肝前体细胞或肝细胞的转化并取得了较好的效果，其中 3D 培养模式也被广泛应用于间充质干细胞成肝分化的研究中，展示出了广阔的前景。对于哪一种来源的间充质肝细胞诱导效果更好，哪一种 3D 诱导方式效率更高也有待进一步研究。此外，目前仍缺乏稳定高效诱导间充质干细胞分化成功能性肝细胞的方案，尽管近年来间充质干细胞来源的肝细胞移植疗法已被证明对动物模型的肝脏疾病有良好的治疗效果，移植过程中如注射细胞的有效剂量、注射方式和作用时间等问题仍然存在。未来研究可以集中在 3D 诱导间充质干细胞成肝分化，以获得体外可扩增、具备成熟肝细胞功能并能实现受者肝脏内移植的诱导性成熟肝细胞。表观遗传机制如何调控间充质干细胞成肝分化过程也需要更多的研究去探索。了解间充质干细胞分化的分子调控机制，可为临床救治肝衰竭等终末期肝病患者提供福音。未来需要结合表观遗传学开发更安全、更有效的培养系统，为疾病建模、药物筛选和细胞治疗开辟新的途径。

致谢：感谢组织工程江西省重点实验室提供的科研平台。

作者贡献：黄海纳负责综述构思设计和论文撰写，彭杰杰负责文章写作校对和项目指导，余艳荣和毕戩参与文献收集、分析总结。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让：文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范：该文章撰写遵守国际医学期刊编辑委员会《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发表宗旨。

4 参考文献 References

- GADD VL, ALEKSIEVA N, FORBES SJ. Epithelial Plasticity during Liver Injury and Regeneration. *Cell Stem Cell*. 2020;27(4):557-573.
- OLIVO R, GUARRERA JV, PYRSOPOULOS NT. Liver Transplantation for Acute Liver Failure. *Clin Liver Dis*. 2018;22(2):409-417.
- DEVARBHAVI H, ASRANI SK, ARAB JP, et al. Global burden of liver disease: 2023 update. *J Hepatol*. 2023;79(2):516-537.
- ZHONG Y, YU JS, WANG X, et al. Chemical-based primary human hepatocyte monolayer culture for the study of drug metabolism and hepatotoxicity: Comparison with the spheroid model. *FASEB J*. 2021;35(3):e21379.
- NAJI A, EITOKU M, FAVIER B, et al. Biological functions of mesenchymal stem cells and clinical implications. *Cell Mol Life Sci*. 2019;76(17):3323-3348.

- [6] AFSHARI A, SHAMDANI S, UZAN G, et al. Different approaches for transformation of mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells. *Stem Cell Res Ther.* 2020; 11(1):54.
- [7] YE JS, SU XS, STOLTZ JF, et al. Signalling pathways involved in the process of mesenchymal stem cells differentiating into hepatocytes. *Cell Prolif.* 2015;48(2): 157-165.
- [8] BEHBAHAN IS, DUAN Y, LAM A, et al. New approaches in the differentiation of human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells toward hepatocytes. *Stem Cell Rev Rep.* 2011;7(3):748-759.
- [9] 彭蕾, 杨晓, 王敏君. 获得诱导性肝细胞样细胞的策略研究 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2022,44(3):512-519.
- [10] SUN H, SHI C, YE Z, et al. The role of mesenchymal stem cells in liver injury. *Cell Biol Int.* 2022;46(4):501-511.
- [11] OZKUL Y, GALDERISI U. The Impact of Epigenetics on Mesenchymal Stem Cell Biology. *J Cell Physiol.* 2016;231(11):2393-2401.
- [12] MORTADA I, MORTADA R. Epigenetic changes in mesenchymal stem cells differentiation. *Eur J Med Genet.* 2018;61(2):114-118.
- [13] JAUKOVIĆ A, ABADJEVA D, TRIVANOVIĆ D, et al. Specificity of 3D MSC Spheroids Microenvironment: Impact on MSC Behavior and Properties. *Stem Cell Rev Rep.* 2020;16(5):853-875.
- [14] RYU NE, LEE SH, PARK H. Spheroid Culture System Methods and Applications for Mesenchymal Stem Cells. *Cells.* 2019;8(12):1620.
- [15] WU X, SU J, WEI J, et al. Recent Advances in Three-Dimensional Stem Cell Culture Systems and Applications. *Stem Cells Int.* 2021;2021: 9477332.
- [16] KOUROUPIS D, CORREA D. Increased Mesenchymal Stem Cell Functionalization in Three-Dimensional Manufacturing Settings for Enhanced Therapeutic Applications. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021;9: 621748.
- [17] XU Q. Human Three-Dimensional Hepatic Models: Cell Type Variety and Corresponding Applications. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021;9:730008.
- [18] OKURA H, KOMODA H, SAGA A, et al. Properties of hepatocyte-like cell clusters from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Tissue Eng Part C Methods.* 2010;16(4):761-770.
- [19] CIPRIANO M, FREYER N, KNÖSPEL F, et al. Self-assembled 3D spheroids and hollow-fibre bioreactors improve MSC-derived hepatocyte-like cell maturation in vitro. *Arch Toxicol.* 2017;91(4):1815-1832.
- [20] OCK SA, KIM SY, JU WS, et al. Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Extend the Lifespan and Enhance Liver Function in Hepatocyte Organoids. *Int J Mol Sci.* 2023;24(20):15429.
- [21] MCKEE C, CHAUDHRY GR. Advances and challenges in stem cell culture. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2017;159:62-77.
- [22] RAGHAV PK, MANN Z, AHLAWAT S, et al. Mesenchymal stem cell-based nanoparticles and scaffolds in regenerative medicine. *Eur J Pharmacol.* 2022;918: 174657.
- [23] YAN XZ, VAN DEN BEUCKEN JJ, BOTH SK, et al. Biomaterial strategies for stem cell maintenance during in vitro expansion. *Tissue Eng Part B Rev.* 2014;20(4):340-354.
- [24] LI YS, HARN HJ, HSIEH DK, et al. Cells and materials for liver tissue engineering. *Cell Transplant.* 2013;22(4):685-700.
- [25] ASADI M, LOTFI H, SALEHI R, et al. Hepatic cell-sheet fabrication of differentiated mesenchymal stem cells using decellularized extracellular matrix and thermoresponsive polymer. *Biomed Pharmacother.* 2021;134:111096.
- [26] WANG Y, LEE JH, SHIRAHAMA H, et al. Extracellular Matrix Functionalization and Huh-7.5 Cell Coculture Promote the Hepatic Differentiation of Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells in a 3D ICC Hydrogel Scaffold. *ACS Biomater Sci Eng.* 2016;2(12):2255-2265.
- [27] XU L, WANG S, SUI X, et al. Mesenchymal Stem Cell-Seeded Regenerated Silk Fibroin Complex Matrices for Liver Regeneration in an Animal Model of Acute Liver Failure. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2017;9(17):14716-14723.
- [28] ALEAHMAD F, EBRAHIMI S, SALMANNEZHAD M, et al. Heparin/Collagen 3D Scaffold Accelerates Hepatocyte Differentiation of Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Tissue Eng Regen Med.* 2017;14(4):443-452.
- [29] LI J, TAO R, WU W, et al. 3D PLGA scaffolds improve differentiation and function of bone marrow mesenchymal stem cell-derived hepatocytes. *Stem Cells Dev.* 2010;19(9):1427-1436.
- [30] PROCTOR WR, FOSTER AJ, VOGT J, et al. Utility of spherical human liver microtissues for prediction of clinical drug-induced liver injury. *Arch Toxicol.* 2017;91(8):2849-2863.
- [31] YANG Y, JIA Y, YANG Q, et al. REVIEW ARTICLE Engineering bio-inks for 3D bioprinting cell mechanical microenvironment. *Int J Bioprint.* 2022;9(1):632.
- [32] MURPHY SV, ATALA A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol.* 2014; 32(8):773-785.
- [33] XIE R, PAL V, YU Y, et al. A comprehensive review on 3D tissue models: Biofabrication technologies and preclinical applications. *Biomaterials.* 2024;304: 122408.
- [34] LEE HJ, KIM YB, AHN SH, et al. A New Approach for Fabricating Collagen/ECM-Based Bioinks Using Preosteoblasts and Human Adipose Stem Cells. *Adv Healthc Mater.* 2015;4(9):1359-1368.
- [35] ZHANG J, CHEN X, CHAI Y, et al. 3D Printing of a Vascularized Mini-Liver Based on the Size-Dependent Functional Enhancements of Cell Spheroids for Rescue of Liver Failure. *Adv Sci (Weinh).* 2024;11(17):e2309899.
- [36] MASTRANGELI M, MILLET S, ORCHID PARTNERS T, et al. Organ-on-chip in development: Towards a roadmap for organs-on-chip. *ALTEX.* 2019;36(4): 650-668.
- [37] EHRlich A, DUCHE D, OUEDRAOGO G, et al. Challenges and Opportunities in the Design of Liver-on-Chip Microdevices. *Annu Rev Biomed Eng.* 2019;21:219-239.
- [38] UNDERHILL GH, KHETANI SR. Bioengineered Liver Models for Drug Testing and Cell Differentiation Studies. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2017;5(3):426-439.e1.
- [39] YEN MH, WU YY, LIU YS, et al. Efficient generation of hepatic cells from mesenchymal stromal cells by an innovative bio-microfluidic cell culture device. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7(1):120.
- [40] LI Z, SUN X. Epigenetic regulation in liver regeneration. *Life Sci.* 2024;353:122924.
- [41] WALEWSKA A, JANUCIK A, TYNECKA M, et al. Mesenchymal stem cells under epigenetic control—the role of epigenetic machinery in fate decision and functional properties. *Cell Death Dis.* 2023;14(11):720.
- [42] JANG S, HWANG J, JEONG HS. The Role of Histone Acetylation in Mesenchymal Stem Cell Differentiation. *Chonnam Med J.* 2022;58(1): 6-12.
- [43] SUI BD, ZHENG CX, LI M, et al. Epigenetic Regulation of Mesenchymal Stem Cell Homeostasis. *Trends Cell Biol.* 2020;30(2):97-116.
- [44] TSAI WL, YEH PH, TSAI CY, et al. Efficient programming of human mesenchymal stem cell-derived hepatocytes by epigenetic regulations. *J Gastroenterol Hepatol.* 2017;32(1):261-269.
- [45] CHEN Y, PAN RL, ZHANG XL, et al. Induction of hepatic differentiation of mouse bone marrow stromal stem cells by the histone deacetylase inhibitor VPA. *J Cell Mol Med.* 2009;13(8B):2582-2592.
- [46] DONG X, PAN R, ZHANG H, et al. Modification of histone acetylation facilitates hepatic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *PLoS One.* 2013;8(5):e63405.
- [47] RAUT A, KHANNA A. Enhanced expression of hepatocyte-specific microRNAs in valproic acid mediated hepatic trans-differentiation of human umbilical cord derived mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res.* 2016;343(2):237-247.
- [48] AN SY, HAN J, LIM HJ, et al. Valproic acid promotes differentiation of hepatocyte-like cells from whole human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells. *Tissue Cell.* 2014;46(2):127-135.
- [49] PANTA W, IMSOONTHORNNUKSA S, YOISUNGNERN T, et al. Enhanced Hepatogenic Differentiation of Human Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells by Using Three-Step Protocol. *Int J Mol Sci.* 2019;20(12):3016.
- [50] JONES PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat Rev Genet.* 2012;13(7):484-492.
- [51] CIPRIANO M, CORREIA JC, CAMÕES SP, et al. The role of epigenetic modifiers in extended cultures of functional hepatocyte-like cells derived from human neonatal mesenchymal stem cells. *Arch Toxicol.* 2017;91(6):2469-2489.
- [52] SEELIGER C, CULMES M, SCHYSCHKA L, et al. Decrease of global methylation improves significantly hepatic differentiation of Ad-MSCs: possible future application for urea detoxification. *Cell Transplant.* 2013;22(1):119-131.
- [53] SNYKERS S, VANHAECKE T, DE BECKER A, et al. Chromatin remodeling agent trichostatin A: a key-factor in the hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells derived of adult bone marrow. *BMC Dev Biol.* 2007;7:24.
- [54] 何宇涛, 冉江华. DNA 甲基化在肝脏再生中的研究现状与展望 [J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2020,27(4):494-498.
- [55] TARIQUE S, NAEEM N, SALIM A, et al. The role of epigenetic modifiers in the hepatic differentiation of human umbilical cord derived mesenchymal stem cells. *Biol Futur.* 2022;73(4):495-502.
- [56] ZHOU X, CUI L, ZHOU X, et al. Induction of hepatocyte-like cells from human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells by defined microRNAs. *J Cell Mol Med.* 2017;21(5):881-893.
- [57] LAUDADIO I, MANFROID I, ACHOURI Y, et al. A feedback loop between the liver-enriched transcription factor network and miR-122 controls hepatocyte differentiation. *Gastroenterology.* 2012;142(1):119-129.
- [58] DAVOODIAN N, LOTFI AS, SOLEIMANI M, et al. MicroRNA-122 overexpression promotes hepatic differentiation of human adipose tissue-derived stem cells. *J Cell Biochem.* 2014;115(9):1582-1593.
- [59] DAVOODIAN N, LOTFI AS, SOLEIMANI M, et al. Let-7f microRNA negatively regulates hepatic differentiation of human adipose tissue-derived stem cells. *J Physiol Biochem.* 2014;70(3):781-789.
- [60] KHOSRAVI M, AZARPIRA N, SHAMDANI S, et al. Differentiation of umbilical cord derived mesenchymal stem cells to hepatocyte cells by transfection of miR-106a, miR-574-3p, and miR-451. *Gene.* 2018;667: 1-9.
- [61] WEI H, LI F, XUE T, et al. MicroRNA-122-functionalized DNA tetrahedron stimulate hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells for acute liver failure therapy. *Bioact Mater.* 2023;28:50-60.
- [62] ZHANG G, LAN Y, XIE A, et al. Comprehensive analysis of long noncoding RNA (lncRNA)-chromatin interactions reveals lncRNA functions dependent on binding diverse regulatory elements. *J Biol Chem.* 2019;294(43):15613-15622.
- [63] WANG Y, HE L, DU Y, et al. The long noncoding RNA lncTCF7 promotes self-renewal of human liver cancer stem cells through activation of Wnt signaling. *Cell Stem Cell.* 2015;16(4):413-425.
- [64] 李梦, 周云, 禹亚彬, 等. 长链非编码 RNA 肝癌高表达转录本促进人骨髓间充质干细胞向肝样细胞的分化 [J]. *中国组织工程研究*, 2019,23(29):4656-4661.
- [65] YU Y, LI M, SONG Y, et al. Overexpression of long noncoding RNA CUDR promotes hepatic differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Mol Med Rep.* 2020;21(3):1051-1058.
- [66] 王丹丹, 禹亚彬, 刘世奇, 等. 人脐带间充质干细胞向肝细胞分化过程中长链非编码 RNA 核富集转录本 1 的作用 [J]. *中国组织工程研究*, 2022,26(30): 4847-4851.
- [67] RASHID S, SALIM A, QAZI REM, et al. Sodium Butyrate Induces Hepatic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells in 3D Collagen Scaffolds. *Appl Biochem Biotechnol.* 2022;194(8):3721-3732.
- [68] RASHID S, QAZI RE, MALICK TS, et al. Effect of valproic acid on the hepatic differentiation of mesenchymal stem cells in 2D and 3D microenvironments. *Mol Cell Biochem.* 2021;476(2):909-919.
- [69] YU Y, HUANG H, YE J, et al. 3D Spheroids Facilitate Differentiation of Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells into Hepatocyte-Like Cells via p300-Mediated H3K56 Acetylation. *Stem Cells Transl Med.* 2024;13(2):151-165.
- [70] LI F, WEI H, JIN Y, et al. Microfluidic Fabrication of MicroRNA-Induced Hepatocyte-Like Cells/Human Umbilical Vein Endothelial Cells-Laden Microgels for Acute Liver Failure Treatment. *ACS Nano.* 2023;17(24):25243-25256.

(责任编辑: MZH, ZN, QY, ZLJ)