

益生菌治疗溃疡性结肠炎的研究现状与展望

吴晓敏, 全巧云, 刘伟

三峡大学第一临床医学院消化内科, 湖北 宜昌 443003

摘要: 溃疡性结肠炎(UC)是一种主要由基因易感个体在特定致病环境下,UC 肠道菌群紊乱与黏膜免疫反应失衡相互作用而引起的慢性非特异的肠道炎症为特征的疾病。近年来随着肠道菌群与 UC 的关系研究备受关注,使微生物治疗 UC 再度成为研究热点。许多研究表明,某些特定益生菌治疗 UC 安全有效,是一种很有前景的辅助甚至替代治疗方法。本文将结合目前宏基因组、代谢组学和微生物治疗的基础研究,对益生菌治疗 UC 的研究进展进行阐述。

关键词: 溃疡性结肠炎; 肠道菌群; 微生态制剂; 益生菌; 疗效; 机制

中图分类号: R 574.62 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2019)09-1295-04

溃疡性结肠炎(UC)是一种主要由异常免疫介导的肠道慢性及复发性炎症。西方发达国家发病率一直较高,近年来随着生活水平的提高,我国发病率也逐渐上升^[1]。临床表现主要为腹痛、腹泻、黏液脓血便,发病机制尚未完全明确且目前尚无法根治。虽然氨基水杨酸、糖皮质激素、免疫抑制剂及新型生物制剂等药物对 UC 具有一定疗效,但其副作用大、停药后易复发、价格昂贵等缺点成了这些传统药物治疗 UC 难以突破的瓶颈。随着肠道菌群与 UC 的关系研究越来越受关注,使微生态制剂(益生菌)成为 UC 的一种很有潜力的治疗方法。

1 益生菌治疗 UC 国际共识

《2015 耶鲁/哈佛大学第三届益生菌研讨会》^[2]中称,大肠杆菌 Nissle 1917 和益生菌混合物 VSL#3 这两种益生菌都获得了维持 UC 缓解的 A 级推荐和诱导 UC 缓解的 B 级推荐;大肠杆菌 Nissle 1917 是 2017《欧洲克罗恩病和结肠炎循证指南》^[3]中推荐作为替代美沙拉嗪来维持治疗 UC 唯一益生菌;2017《欧洲肠外肠内营养学会 IBD 临床营养指南》^[4]推荐益生菌作为用于 UC 诱导和维持缓解的辅助治疗;《2017 世界胃肠病学组织全球指南益生菌与益生元》^[5]中推荐益生菌 VSL#3 和大肠杆菌 Nissle 1917 分别用于 UC 诱导缓解与维持治疗;《中国消化道微生态调节剂临床应用共识(2016 版)》指出^[6],临床研究和荟萃分析显示益生菌 VSL#3 在 UC 诱导缓解、维持治疗、预防及治疗术后贮袋炎方面起一定作用,维持治疗与 5-氨基水杨酸疗效相当,大肠杆菌 Nissle 对 UC 也有相当于美沙拉嗪的疗效,目前推荐使用益生菌制剂作为辅助治疗。

2 肠道菌群与 UC

健康的肠道微生物群主要以厚壁菌门及拟杆菌门为主,在新陈代谢、免疫反应和肠上皮屏障等正常生理过程中起到重要作用,具有促进营养素和矿物质的吸收、维生素和氨基酸

的合成、短链脂肪酸(SCFAs)的产生、维持肠道黏膜屏障的结构完整性、免疫调节和抵御病原体等功能。UC 与肠道菌群失调及代谢紊乱关系密切。Weingarden 等^[7]研究发现 UC 患者肠道细菌组成的定性和定量变化,UC 患者肠道细菌多样性减少和丰富度降低,优势菌数量减少,致病菌数量增加,主要以厚壁菌门和拟杆菌门减少,变形菌门和放线菌门增加为主。Machiels 等^[8]发现 UC 患者中产生丁酸的厚壁菌群中有两种重要的细菌,即罗斯拜瑞氏菌和普拉梭菌显著降低。Varela 等^[9]发现,活动性 UC 患者相对于缓解期的患者,乳酸杆菌属数量减少,在 UC 缓解期,普拉梭菌的数量明显增加;UC 患者肠道具有产生 SCFAs 的梭菌和拟杆菌的减少,肠上皮营养缺乏肠黏膜通透性的增加可导致致病菌抗原暴露,先天免疫系统和适应性免疫系统的激活并可通过分泌趋化因子和促炎细胞因子诱导慢性肠道炎症。

3 益生菌治疗 UC 临床疗效

3.1 益生菌 VSL#3 Tursi 等^[10]的一项随机双盲安慰剂对照研究将 144 例 UC 患者分为益生菌 VSL#3 组和安慰剂组治疗 8 周后比较,在 UC 活动评分(UCDAI)及改善便血症状方面,益生菌组均优于安慰剂组,且有明显统计学差异;在诱导轻至中度活动性 UC 缓解率方面,益生菌组高于安慰剂(47.7% vs 32.4%, $P=0.069$);并发现在 UC 标准治疗中添加益生菌 VSL#3,可显著改善轻中度 UC 复发的症状及疾病活动程度;益生菌 VSL#3 可能被认为是改善复发性轻中度 UC 且能避免或延迟使用糖皮质激素和免疫抑制剂的另一种治疗选择。Sood 等^[11]证实了这些发现,他们选取 147 例 UC 患者,将益生菌 VSL#3 联合美沙拉嗪与安慰剂进行随机对照,治疗 6 周后结果发现在 UCDAI 评分至少降低了 50% 方面,益生菌组均优于安慰剂组($P<0.001$),治疗 12 周后,益生菌组缓解率高于安慰剂组(43% vs 16%, $P<0.001$),益生菌 VSL#3 增强了美沙拉嗪的抗炎作用。

3.2 大肠杆菌 Nissle 1917 Rembacken 等^[12]进行的一项单中心随机双盲对照研究,将 116 例 UC 患者分为大肠杆菌 Nissle 1917 组和美沙拉嗪组,两组均伴随糖皮质激素治疗,在病情得到缓解后,患者继续服用美沙拉嗪或大肠杆菌 Nissle 1917,持续 1 年,两组患者缓解率、缓解时间和复发率统计学无明显差异。Kruis 等^[13]进行了 327 例 UC 患者的大肠杆菌 Nissle 1917 与美沙拉嗪对照治疗 12 个月随机双盲对照试验,在 UCDAI、维持缓解时间、复发率方面进行比较结果显示无统计学差异。上述作者都认为大肠杆菌 Nissle 1917 治疗 UC 在维持缓解方面与美沙拉嗪同样有效,在统计学上不显著劣于口服美沙拉嗪;此外,治疗组之间没有观察到不良反应的差异。

3.3 长双歧杆菌 536 Tamaki 等^[14]的一项 56 例轻中度 UC 患者的长双歧杆菌 536 与安慰剂随机双盲对照试验中,长双歧杆菌 536 组的患者在第 8 周临床缓解率为 63%,而安慰剂组的患者缓解率为 52% ($P = 0.395$),长双歧杆菌 536 组的 UCDAI 评分显着下降 ($P < 0.01$),而安慰剂组没有显著下降 ($P = 0.88$)。得出结论为:长双歧杆菌 536 治疗轻至中度活动性 UC 患者 8 周后,能降低 UCDAI、Rachmilewitz 内镜指数和 Mayo 评分并具有良好的耐受性。

3.4 唾液乳杆菌、嗜酸乳杆菌和双歧杆菌益生菌混合物 Palumbo 等^[15]将 60 名中重度 UC 的患者随机分为美沙拉嗪治疗组(30 名,口服美沙拉嗪 1.2 g/d)和联合益生菌治疗组(30 名,口服美沙拉嗪 1.2 g/d,联合每日给予两次唾液乳杆菌,嗜酸乳杆菌和双歧杆菌 BGN4 的益生菌混合物),治疗进行两年。结果显示,与单用美沙拉嗪治疗组相比,联合益生菌治疗组所有患者临床症状均得到更好的改善;认为美沙拉嗪联合益生菌的长期治疗方式是可行的,或许可成为替代糖皮质激素治疗轻至中度 UC 的方法。

3.5 鼠李糖乳杆菌 GG Zocco 等^[16]进行了一项关于鼠李糖乳杆菌 GG 治疗缓解期 UC 的随机对照研究,将 187 例患者随机分为鼠李糖乳杆菌 GG 组 (18×10^9 CFU/d)、美沙拉嗪组 (2.4 g/d) 和鼠李糖乳杆菌 GG 联合美沙拉嗪组。分别在 6 个月和 12 个月时间节点用 UCDAI 及内镜或组织学评分来评估复发率,结果显示三组维持缓解率无统计学差异,但益生菌组和联合组与美沙拉嗪组相比,无复发生存期均明显延长 ($P < 0.05$)。

3.6 布拉酵母菌 Guslandi 等^[17]研究了 25 名轻至中度复发活动性 UC,使用高剂量美沙拉嗪口服(1 g/次,每日 3 次)维持治疗至少 3 个月后,辅以布拉酵母菌(250 mg,3 次/d)继续治疗 4 周。用 Rachmilewitz 内镜指数评估布拉酵母菌治疗前后临床活动度,结果显示内镜下确认其中 17 名达到临床缓解,认为布拉酵母菌能协助诱导 UC 缓解,它可能是 UC 的一个重要辅助治疗方法。

4 益生菌治疗 UC 可能机制

4.1 调节肠道菌群失调及代谢紊乱 益生菌可直接补充肠道生理性细菌数量,并抢占肠道微环境中生态位及竞争营养素从而恢复对病原体定植抵抗。益生菌及其代谢产物(如细

菌素、SCFAs、过氧化氢等)可以抑制致病菌生长繁殖或直接杀死致病菌。益生菌丰富了肠道菌群的多样性,并增加了产丁酸盐菌群的比例,使丁酸盐的水平升高。丁酸盐通过诱导肠道上皮紧密连接蛋白的表达来恢复黏膜屏障的完整性,SCFAs 可刺激肠上皮细胞分泌抗菌肽,还能通过抑制促炎细胞因子的信号通路,降低环氧合酶、过氧化物酶的表达,从而减轻肠道炎症反应^[18]。Scalaferrri 等^[19]研究发现,大肠杆菌 Nissle 1917 和植物乳杆菌在 Caco-2 细胞模型中通过 TLR2 和 TLR5 途径诱导具有直接的抗菌作用的 β -防御素的分泌。Yao 等^[20]研究表明,三硝基苯磺酸诱导的大鼠 UC 模型中,UC 小鼠结肠组织中的还原型谷胱甘肽浓度显著降低,脂质过氧化产物和一氧化氮水平显著升高,然而,用两歧双歧杆菌 231 治疗可以提高还原型谷胱甘肽水平,且能显著降低脂质过氧化产物和一氧化氮水平。

4.2 增强肠道屏障功能 许多益生菌已被证明通过调节肠上皮黏液层相关蛋白及细胞连接复合物的表达来增强肠黏膜屏障功能。UC 患者肠黏膜黏液厚度减少促进致病菌与黏液的结合定植后引起上皮细胞损伤。益生菌 VSL#3 能诱导 MUC2、MUC3 和 MUC5AC 基因表达并增加相应黏蛋白及 occludin、ZO-1、claudin-1 和 claudin-4 紧密连接蛋白的分泌,还可显著减少肠上皮细胞凋亡^[21]。大肠杆菌 Nissle 1917 它通过分泌外膜囊泡,含有 TIR 结构域蛋白等可溶性分泌因子途径上调 ZO-1、ZO-2 和 claudin-14 的 mRNA 表达来增强肠上皮细胞的紧密连接蛋白表达,从而起到对“漏肠”的修复的作用^[22]。鼠李糖乳杆菌 GG 通过分泌可溶性蛋白 p40 激活表皮生长因子受体和下调蛋白激酶途径,诱导肠道上皮细胞的 MUC3、ZO-1 和 claudin-3 的表达,来修复受损的肠上皮细胞及降低细胞旁通透性^[23]。布拉酵母菌能够促进肠黏膜分泌 E-钙黏蛋白来恢复肠上皮细胞黏附连接,还能通过抑制 $\alpha\beta5$ 信号通路和激活 $\alpha2\beta1$ 整合素胶原蛋白受体来改善肠上皮细胞的恢复^[24]。

4.3 调节细胞因子环境及免疫失衡 益生菌主要通过 Toll 样受体和核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)受体信号通路激活调节性 T 细胞而介导细胞免疫,益生菌作为抗原可刺激肠道 B 淋巴细胞分化为浆细胞进而产生分泌型免疫球蛋白(sIg)A 参与体液免疫。益生菌还能抑制 NF- κ B 活化途径,减少促炎细胞因子如肿瘤坏死因子(TNF)- α 、干扰素(IFN)- γ 和白细胞介素(IL)-1、IL-8,同时上调抗炎细胞因子如 IL-10 和转化生长因子(TGF)- β ,调节肠黏膜免疫耐受,抑制中性粒细胞浸润引起的损伤^[25]。大肠杆菌 Nissle 1917 已被证明可以降低促炎细胞因子 TNF- α 、IFN- γ 和 IL-2 的水平,提高抗炎细胞因子 IL-10 表达水平,减少肠黏膜上皮 T 细胞浸润,减轻肠道炎症^[26]。益生菌 VSL#3 能够下调 IL-12 与 IFN- γ 水平,抑制 T 细胞、B 细胞和 Toll 细胞受体信号转导,从而降低 Th1 转录因子的表达,减弱 Th1 应答,并抑制促炎症介质如 IL-6、TNF- α 、IFN- γ 的表达,从而减少中性粒细胞浸润;还能通过 TLR 4 信号通路抑制信号传导及转录激活因子(STAT)-1 磷酸化,进而抑制人外周血树突状细胞分泌趋化因子的表达来控制炎症^[27]。嗜酸乳杆菌可通过抑制肠上皮细胞上的共刺激分子 CD40 和 CD80

的表达和促 Th17 的转录因子 ROR γ 、STAT 和 NF- κ B 的下调,使 IL-17 水平降低,进而减少中性粒细胞浸润^[28]。双歧杆菌治疗三硝基苯磺酸诱导的小鼠结肠炎模型中表现出肠上皮 IL-8、IL-1A、IL-1 β 和 TNF- α 基因表达水平下调,而 IL-10 mRNA 的上调,促进单核细胞合成 IL-10 增加,调节促炎细胞因子和抗炎细胞因子的失衡,抑制巨噬细胞和中性粒细胞浸润^[29]。布拉酵母菌可以减少细菌脂多糖诱导的结肠炎小鼠肠上皮细胞 CD40 和 CD80 阳性树突状细胞的表达,减少结肠上皮 CD4 + T 细胞浸润从而抑制促炎细胞因子 IFN- γ 的产生^[30];另外,还能抑制促炎介质如 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、iNOS 和 PPAR- γ 的活化及阻断血管内皮生长因子受体通路,减轻肠道炎症并促进黏膜修复^[31]。

5 总结与展望

目前临床试验研究证据表明,治疗 UC 有效且作为辅助甚至替代治疗方法尚仅限于某些特定益生菌及其制剂,如益生菌 VSL#3 和大肠杆菌 Nissle 1917,分别倾向推荐用于 UC 诱导缓解与维持治疗,虽然很多试验数据在研究另一些特定益生菌,如乳酸杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌 GG 及布拉酵母菌治疗 UC 方面具有一定潜力,但仍然缺乏大样本、多中心的随机对照试验的强有力证据来鼓励作为主流使用。益生菌可能通过改善肠道菌群失调及代谢紊乱、增强肠道屏障功能、调节细胞因子环境及免疫失衡来控制炎症等机制来治疗 UC。

未来的发展可能在于研究开发出具有特定功效的“靶向细菌”,可能将益生菌的概念拓展到所谓的药物而不仅仅是微生物制剂,这一概念不仅包括活的生物体,还包括死的生物体、转基因细菌、细菌成分和细菌产品等。根据个体特定的内源性肠道菌群组成特点选择靶向益生菌,通过这些肠道菌群的特异性改变,益生菌可能在 UC 的定制饮食疗法中发挥重要作用。肠道菌群及其代谢产物通过菌群-肠-脑轴参与心身和精神疾病的病理生理过程,由于肠-脑轴的双向性,焦虑或抑郁可能反过来加剧或引发 UC,益生菌通过作用于菌群-肠-脑轴治疗 UC 患者心理症状来改善患者生活质量,或许将成为益生菌新的一种靶向治疗方法。

参考文献

- [1] Cui GL, Yuan A. A systematic review of epidemiology and risk factors associated with Chinese inflammatory bowel disease [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2018, 5:183.
- [2] Floch MH, Walker WA, Sanders ME, et al. Recommendations for probiotic use-2015 update: proceedings and consensus opinion [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2015, 49 Suppl 1: S69 - S73.
- [3] Harbord M, Eliakim R, Bettenworth D, et al. Corrigendum: third European evidence-based consensus on diagnosis and management of ulcerative colitis. part 2: current management [J]. *J Crohn's Colitis*, 2017, 11(12): 1512.
- [4] Forbes A, Escher J, Hébuterne X, et al. ESPEN guideline: Clinical nutrition in inflammatory bowel disease [J]. *Clin Nutr*, 2017, 36(2): 321 - 347.
- [5] Francisco G, Mary ES, Rami E, et al. World Gastroenterology Organi-

- ation Global Guidelines: Probiotics and prebiotics February 2017 [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2017, 51(9): 832 - 836.
- [6] 中华预防医学会微生物学会. 中国消化道生态调节剂临床应用专家共识(2016 版) [J]. *中国实用内科杂志*, 2016, 36(10): 858 - 869.
- [7] Weingarden AR, Vaughn BP. Intestinal Microbiota fecal Microbiota transplantation, and inflammatory bowel disease [J]. *Gut Microbes*, 2017, 8(3): 238 - 252.
- [8] Machiels K, Joossens M, Sabino J, et al. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis [J]. *Gut*, 2014, 63(8): 1275 - 1283.
- [9] Varela E, Manichanh C, Gallart M, et al. Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2013, 38(2): 151 - 161.
- [10] Tursi A, Brandimarte G, Papa A, et al. Treatment of relapsing mild-to-moderate ulcerative colitis with the probiotic VSL#3 as adjunctive to a standard pharmaceutical treatment: a double-blind, randomized, placebo-controlled study [J]. *Am J Gastroenterol*, 2010, 105: 2218e27.
- [11] Sood A, Midha V, Makharia GK, et al. The probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2009, 7(11): 1202 - 1209. e1.
- [12] Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, et al. Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial [J]. *Lancet*, 1999, 354(9179): 635 - 639.
- [13] Kruis W, Fric P, Pokrotnieks J, et al. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine [J]. *Gut*, 2004, 53(11): 1617 - 1623.
- [14] Tamaki H, Nakase H, Inoue S, et al. Efficacy of probiotic treatment with *Bifidobacterium longum* 536 for induction of remission in active ulcerative colitis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial [J]. *Dig Endosc*, 2016, 28(1): 67 - 74.
- [15] Palumbo VD, Romeo M, Marino Gammazza A, et al. The long-term effects of probiotics in the therapy of ulcerative colitis: A clinical study [J]. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2016, 160(3): 372 - 377.
- [16] Zocco MA, Dal Verme LZ, Cremonini F, et al. Efficacy of *Lactobacillus GG* in maintaining remission of ulcerative colitis [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2006, 23(11): 1567 - 1574.
- [17] Guslandi M, Giollo P, Testoni PA. A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2003, 15(6): 697 - 698.
- [18] Fellows R, Denizot J, Stellato C, et al. Microbiota derived short chain fatty acids promote histone crotonylation in the colon through histone deacetylases [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 105.
- [19] Scaldaferrì F, Gerardi V, Mangiola F, et al. Role and mechanisms of action of *Escherichia coli* Nissle 1917 in the maintenance of remission in ulcerative colitis patients: An update [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(24): 5505 - 5511.

- [20] Yao P, Tan F, Gao HL, et al. Effects of probiotics on Toll-like receptor expression in ulcerative colitis rats induced by 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(4):1973-1980.
- [21] Wan LY, Chen ZJ, Shah NP, et al. Modulation of intestinal epithelial defense responses by probiotic Bacteria[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2016, 56(16):2628-2641.
- [22] Alvarez CS, Badia J, Bosch M, et al. Outer membrane vesicles and soluble factors released by probiotic *Escherichia coli* nissle 1917 and commensal ECOR63 enhance barrier function by regulating expression of tight junction proteins in intestinal epithelial cells[J]. *Front Microbiol*, 2016, 7:1981.
- [23] Wang LH, Cao HL, Liu LP, et al. Activation of epidermal growth factor receptor mediates mucin production stimulated by p40, a *Lactobacillus rhamnosus* GG-derived protein [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(29):20234-20244.
- [24] Terciolo C, Dobric A, Ouaisi M, et al. *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 restores intestinal barrier integrity by regulation of E-cadherin recycling[J]. *J Crohns Colitis*, 2017, 11(8):999-1010.
- [25] Shen ZH, Zhu CX, Quan YS, et al. Relationship between intestinal Microbiota and ulcerative colitis: Mechanisms and clinical application of probiotics and fecal Microbiota transplantation[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(1):5-14.
- [26] Chibbar R, Dieleman LA. Probiotics in the management of ulcerative colitis[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2015, 49 Suppl 1:S50-S55.
- [27] Mariman R, Tielen F, Koning F, et al. The probiotic mixture VSL#3 dampens LPS-induced chemokine expression in human dendritic cells by inhibition of STAT-1 phosphorylation [J]. *PLoS One*, 2014, 9(12):e115676.
- [28] Owaga E, Hsieh R, Mugendi B, et al. Th17 cells as potential probiotic therapeutic targets in inflammatory bowel diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(9):20841-20858.
- [29] Satish Kumar CS, Kondal Reddy K, Boobalan G, et al. Immunomodulatory effects of *Bifidobacterium bifidum* 231 on trinitrobenzenesulfonic acid-induced ulcerative colitis in rats[J]. *Res Vet Sci*, 2017, 110:40-46.
- [30] Sivananthan K, Petersen AM. Review of *Saccharomyces boulardii* as a treatment option in IBD [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2018, 40(6):465-475.
- [31] Zhou H, Zhang HJ, Guan L, et al. Mechanism and therapeutic effects of *Saccharomyces boulardii* on experimental colitis in mice[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(6):5652-5662.

收稿日期:2019-01-17 编辑:王国品

(上接第 1294 页)

- [29] Yagi H, Fukumitsu K, Fukuda K, et al. Human-scale whole-organ bioengineering for liver transplantation: a regenerative medicine approach[J]. *Cell Transplant*, 2013, 22(2):231-242.
- [30] Deng F, Chen L, Zhang Y, et al. Development of a bioreactor based on magnetically stabilized fluidized bed for bioartificial liver [J]. *Bio-process Biosyst Eng*, 2015, 38(12):2369.
- [31] Sauer IM, Kardassis D, Zeillinger K, et al. Clinical extracorporeal hybrid liver support-phase I study with primary Porcine liver cells[J]. *Xenotransplantation*, 2003, 10(5):460-469.
- [32] Verma SK, Modi A, Bellare J. Three-dimensional multiscale fiber matrices: development and characterization for increased HepG2 functional maintenance for bio-artificial liver application [J]. *Biomate Sci*, 2018, 16(2):280-291.
- [33] Nibourg GA, Hoekstra R, van der Hoeven TV, et al. Increased hepatic functionality of the human hepatoma cell line HepaRG cultured in the AMC bioreactor[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(8):1860-1868.
- [34] Sussman NL, Kelly JH. Artificial liver[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2014, 12(9):1439-1442.
- [35] 高义萌, 孙露露, 惠利健. 生物人工肝研究进展[J]. *生命科学*, 2016, 28(8):915-920.
- [36] Lv G, Zhao LF, Zhang AY, et al. Bioartificial liver system based on choanoid fluidized bed bioreactor improve the survival time of fulminant hepatic failure pigs [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2011, 108(9):2229-2236.

收稿日期:2019-01-18 编辑:王国品